



Universidade Federal
de Campina Grande

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM HORTICULTURA
TROPICAL

JACKSON DE MESQUITA ALVES

BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS
COMO ATENUANTES DO DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO VERDE

Pombal - PB

2021

JACKSON DE MESQUITA ALVES

**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS
COMO ATENUANTES DO DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO VERDE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Campina Grande, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Horticultura
Tropical, para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof^o. Dr. Josinaldo Lopes Araújo Rocha

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL
CAMPUS POMBAL/CCTA/UFMG**

A474b Alves, Jackson de Mesquita.

Bactérias promotoras de crescimento de plantas como atenuantes do déficit hídrico em milho verde / Alves, Jackson Mesquita. – Pombal, 2021.

51 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, 2021.

“Orientação: Prof. Dr. Josinaldo Lopes Araújo Rocha”.

Referências.

1. Cultivo de milho. 2. Déficit hídrico. 3. Bioinoculantes. 4. Trocas gasosas. 5. Nutrição mineral. I. Rocha, Josinaldo Lopes Araújo. II. Título.

CDU 663.15(043)

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Auxiliadora Costa (CRB 15/716)

JACKSON DE MESQUITA ALVES

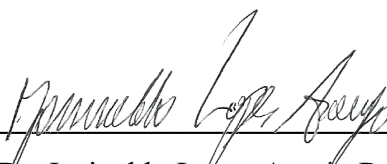
**BACTÉRIAS PROMOTORAS DE CRESCIMENTO DE PLANTAS
COMO ATENUANTES DO DÉFICIT HÍDRICO EM MILHO VERDE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Campina Grande, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Horticultura
Tropical, para obtenção do título de mestre.

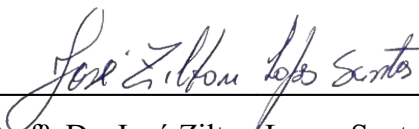
Aprovado em: 26/10/2021

BANCA EXAMINADORA:

Orientador: Prof^o. Dr. Josinaldo Lopes Araújo Rocha



Prof^o. Dr. Josinaldo Lopes Araújo Rocha
CCTA/UFCG
Orientador



Prof^o. Dr. José Zilton Lopes Santos
UFAM
Examinador externo



Prof^o. Dr. Geovani Soares de Lima
CCTA/UFCG
Examinador interno

A DEUS, Sem ele nada seria possível. Aos meus pais Emília e Jandui que sempre me incentivaram e apoiaram em todos os momentos da minha vida e com esforço possibilitaram a minha formação. A minha irmã, Jaqueline de Mesquita, pelo incentivo e carinho.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me faz acreditar que nunca se deve perder a fé na vida, já que sempre há algo melhor por vir, mesmo que não seja pelo trajeto e no tempo que nós queremos;

A minha mãe Emília Neta de Mesquita, incansável, paciente, protetora, exemplo de amor e dedicação, que nunca mediu esforços para a minha educação e meus sonhos;

A meu pai Jandui Alves Bezerra (*in memoriam*), embora fisicamente ausente, sentia sua presença ao meu lado, dando-me força;

Agradeço à CAPES, pela concessão da bolsa de estudos;

Ao meu orientador prof^o. Dr. Josinaldo Lopes Araújo Rocha pelos ensinamentos, incentivo, orientação, presteza, paciência e confiança, durante a realização desta pesquisa;

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Horticultura Tropical da UFCG, que contribuíram ao longo do curso, por meio das disciplinas e debates, para o meu desenvolvimento profissional e social;

Ao funcionário da UFCG, Jociano Mendes Bandeira, pela prontidão e atendimento quando me foi necessário;

Ao colega de pesquisa, Pedro Jorge da Silva Severo, pelos momentos de amizade e apoio na condução do experimento em campo;

A Edinalda Fernandes de Souza, pela compreensão e dedicação em todos os momentos alegres e ajuda nos momentos abstrusos;

Ao meu amigo Alex Serafim de Lima, grande companheiro de jornada, pelo companheirismo, momentos alegres e ajuda nos momentos difíceis, compartilhando sua experiência de forma construtiva, "gratidão"

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Dados climatológicos de temperatura e umidade relativa do ar durante o período experimental.....	24
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Atributos químicos e físicos do solo na camada de 0-20 cm do solo PLANOSSOLO HÁPLICO utilizado antes da instalação do experimento.....	24
Tabela 2	Descrição dos tratamentos correspondentes às subparcelas.....	25
Tabela 3	Valores de Kc utilizados no experimento durante o ciclo da cultura do milho.....	28
Tabela 4	Valores totais das lâminas de irrigação utilizadas no experimento.....	28
Tabela 5	Resumo da análise de variância do efeito de lâminas de irrigação (L) e bioinoculantes e Co + Mo (B) na concentração interna de CO ₂ - (Ci), transpiração - (E), condutância estomática - (gs), taxa de assimilação de CO ₂ - (A), eficiência intrínseca do uso da água - (EiUA) e eficiência instantânea de carboxilação - (EiC) em plantas de milho verde cv. AG 1051, aos 70 dias de idade.....	32
Tabela 6	Concentração interna de CO ₂ (Ci), transpiração (E), taxa de assimilação de CO ₂ (A), eficiência intrínseca do uso da água - EiUA (A/E) e eficiência instantânea de carboxilação - EiC (A/Ci) em genótipo de milho verde cv. AG 1051 sob diferentes lâminas de irrigação, bioinoculantes e Co + Mo.....	33
Tabela 7	Eficiência intrínseca do uso da água - EiUA (A/E), EUA veg, EUA rep em genótipo de milho verde cv. AG 1051 sob diferentes lâminas de irrigação, bioinoculantes e Co + Mo.....	34
Tabela 8	Resumo da análise de variância do efeito de lâminas de irrigação (L) e bioinoculantes (B) e Co + Mo para os teores foliares de N, P, K, nitrato (N-NO ₃ ⁻), amônio (N- NH ₄ ⁺), N mineral (N-NO ₃ ⁻ + N- NH ₄ ⁺) e N orgânico na massa seca de plantas de milho verde cv. AG 1051, aos 70 dias de idade.....	35
Tabela 9	Teores foliares de N, nitrato (N-NO ₃ ⁻), amônio (N- NH ₄ ⁺), N mineral (N-NO ₃ ⁻ , + N- NH ₄ ⁺) e N orgânico na massa seca do milho verde cv. AG 1051 cultivado sob influência das lâminas de irrigação (L), bioinoculantes (B) e Co + Mo.....	36
Tabela 10	Teores foliares de P e K na massa seca do milho verde cv. AG 1051 cultivado sob influência das lâminas de irrigação (L), bioinoculantes (B) e Co + Mo.....	37
Tabela 11	Resumo da análise de variância do efeito de lâminas de irrigação (L) e bioinoculantes (B) e Co + Mo para os teores de nitrato (N-NO ₃ ⁻), amônio (N- NH ₄ ⁺), N mineral, fósforo total (Pt), fósforo inorgânico (Pi), fósforo	

	orgânico (Po), P-CaCl ₂ e P Mehlich-1 no solo cultivado com plantas de milho verde cv. AG 1051, aos 70 dias de idade.....	38
Tabela 12	Teores de nitrato (N-NO ₃ ⁻), amônio (N- NH ₄ ⁺) e N mineral (N-NO ₃ ⁻ + N-NH ₄ ⁺), no solo cultivado com milho verde cv. AG 1051 em função das lâminas de irrigação e bioinoculantes e Co + Mo.....	39
Tabela 13	Teores de P total, fósforo inorgânico, P orgânico, P solúvel em CaCl ₂ e P-Mehlich-1 no solo cultivado com milho verde cv. AG 1051 em função das lâminas de irrigação e bioinoculantes e Co + Mo.....	40

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	viii
SUMÁRIO.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 Exigências hídricas e efeitos do déficit hídrico na cultura do milho.....	14
2.2 Mecanismos de superação do estresse hídrico.....	16
Bactérias promotoras de crescimento de plantas como atenuantes do estresse	
2.3 hídrico.....	18
2.4 Inter-relação entre déficit hídrico e nutrição mineral.....	20
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.1 Localização da área experimental.....	23
3.2 Delineamento experimental e tratamentos	25
3.3 Preparo do solo semeadura e adubação.....	25
3.4 Controle fitossanitário.....	26
3.5 Aplicação dos tratamentos.....	26
3.6 Manejo das lâminas de irrigação.....	26
3.7 Avaliações nas plantas.....	28
3.7.1 Trocas gasosas e eficiência do uso da água.....	28
3.7.2 Análises na massa seca de folhas.....	29
3.8 Avaliações no solo.....	30
3.8.1 Fósforo.....	30
3.8.2 Nitrogênio.....	31
3.9 Análises estatísticas.....	31
4. RESULTADOS.....	31
4.1 Trocas gasosas e eficiência do uso da água.....	31
4.2 Teores de N, P, K e frações de N nos tecidos foliares.....	34
4.3 Frações de nitrogênio e de fósforo no solo.....	38

5. DISCUSSÃO.....	41
6. CONCLUSÕES.....	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

RESUMO

ALVES, Jackson de Mesquita. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas como atenuantes do déficit hídrico em milho verde**. 2021. 52p. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) - Universidade Federal de Campina Grande. Pombal – PB¹.

O milho é uma das culturas de maior expressividade do agronegócio do Brasil e do mundo em função de sua versatilidade de uso, tanto na alimentação humana quanto na alimentação animal. No semiárido brasileiro, a produtividade do milho verde é ainda relativamente baixa em comparação com outras regiões do país, devido a não adoção de novas tecnologias de produção e principalmente, ao déficit hídrico. Objetivou-se avaliar as trocas gasosas, eficiência de utilização de água, nutrição mineral do milho verde em função de bioinoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) e Co + Mo, bem como sua influência sobre a disponibilidade de P e N no solo. Instalou-se um experimento em condições de campo com a cultivar de milho verde AG 1051, em parcelas subdivididas no espaço, onde as parcelas foram constituídas por três lâminas de irrigação (60, 80 e 100% da ETc) e as subparcelas corresponderam à quatro tratamentos à base de BPCP e Co + Mo (C: controle, sem bioinoculante; T1: *Bacillus subtilis*; T2: *Bacillus amyloliquefaciens* mais *Azospirillum brasiliensis* e T3: Co + Mo, solução com 0,3% de Co e 10% de Mo. Os bioinoculantes contendo BPCP ou Co + Mo não interferiram na taxa de assimilação de CO₂ nem na eficiência do uso da água no milho verde. BPCP, especialmente *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* e *B. subtilis* promoveram melhoria na nutrição nitrogenada do milho com o aumento no teor de N total e N mineral nos tecidos foliares, mas não alteraram os teores de P e K. Os bioinoculantes *B. subtilis* e Co + Mo aumentaram os teores de N mineral e os teores de P solúvel e orgânico no solo. O nível de estresse hídrico mais severo (60% da ETc), promoveu uma maior eficiência de uso da água para a produção de massa fresca vegetativa.

Palavras-chave: Déficit hídrico, bioinoculantes, trocas gasosas, nutrição mineral.

¹Orientador: prof^o. Dr. Josinaldo Lopes Araújo Rocha, CCTA/UFCG.

ABSTRACT

ALVES, Jackson de Mesquita. **Plant growth-promoting bacteria as water deficit attenuators in green corn.** 2021. 52p. Dissertation (Master in Tropical Horticulture) - Federal University of Campina Grande, Pombal-PB¹

Corn is one of the most expressive crops in agribusiness in Brazil and in the world due to its versatility of use, both in human and animal feed. In the Brazilian semiarid region, green maize productivity is still relatively low compared to other regions of the country, due to the non-adoption of new production technologies and, mainly, to the water deficit. The objective was to evaluate gas exchange, water use efficiency, mineral nutrition of green corn as a function of bioinoculants containing plant growth - promoting bacteria (PGPB) and Co + Mo, as well as their influence on the availability of P and N in the ground. An experiment was carried out under field conditions with the green maize cultivar AG 1051, in spatially subdivided plots, where the plots consisted of three irrigation depths (60, 80 and 100% of ET_c) and the subplots corresponded to four treatments based on BPCP and Co + Mo (C: control, without bioinoculant; T1: *Bacillus subtilis*; T2: *Bacillus amyloliquefaciens* plus *Azospirillum brasiliensis* and T3: Co + Mo, solution with 0.3% Co and 10% Mo. Bioinoculants containing PGPB or Co + Mo did not interfere in the rate of CO₂ assimilation or in the efficiency of water use in green corn. PGPB, especially *B. amyloliquefaciens* plus *A. brasiliensis* and *B. subtilis* promoted an improvement in the nitrogen nutrition of corn with the increase in total N and mineral N content in leaf tissues, but did not change P and K content. Bioinoculants *B. subtilis* and Co + Mo increased mineral N content and soluble and organic P content in the soil. most severe water stress level (60% of ET_c), promoted a greater efficiency in the use of water for the production of vegetative fresh mass.

Keywords: Water deficit, bioinoculants, gas exchange, mineral nutrition.

Mentor: Prof^o Dr. Josinaldo Lopes Araújo Rocha, CCTA/UFCG

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de milho (*Zea mays* L.) verde, ou seja, milho com grãos no estado leitoso, predomina na região Nordeste brasileira, mas vem ganhando importância em todo o Brasil, devido ao maior valor de comercialização quando comparado com grãos secos (PAIVA et al., 2012). O cultivo de milho, na região do semiárido brasileiro, para a produção de forragem e principalmente para consumo como milho verde é importante, especialmente, em pequenas propriedades rurais (SILVA et al., 2016).

Na região semiárida, a produção de milho verde é altamente dependente da irrigação devido às irregularidades dos períodos chuvosos, apresentando baixa precipitação e elevada evapotranspiração, característica desta região. Contudo, a escassez de água para irrigação tem se tornado cada vez maior em todo o mundo, especialmente em função de mudanças climáticas, fato que tem levado diversas culturas, em todo o país, a experimentar períodos de estresse hídrico durante seu ciclo.

O déficit hídrico é um dos fatores abióticos que mais afeta negativamente o crescimento e a produtividade do milho (FALOYE et al., 2019). Além das perdas de produtividade, a deficiência hídrica pode reduzir o período de formação de grãos e interferir no desenvolvimento ovariano, aumentando o número de grãos abortados (MARWEIN et al., 2017). A deficiência hídrica pode diminuir a absorção e acúmulo de nutrientes, devido à redução do crescimento radicular e ao fato de que a água é o veículo pelo qual os nutrientes minerais se deslocam da solução do solo para as raízes da planta (GESSLER et al., 2017).

Dentre as estratégias para atenuar o estresse hídrico nas culturas, têm recebido atenção da pesquisa, o uso de bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP), algumas vezes denominadas de biofertilizantes (FERREIRA et al., 2014). Os produtos biofertilizantes geralmente são baseados em BPCP, que podem aumentar a produtividade das culturas e a fertilidade do solo sem exercer nenhum efeito negativo no ambiente. Além disso, podem diminuir a disponibilidade de substâncias tóxicas, metais pesados e aumentar a disponibilidade de nutrientes como fósforo (P) e nitrogênio (N) para as plantas (RAMAKRISHNA et al., 2019; LU et al., 2021).

As BPCP no solo podem elevar à produção de substâncias osmorreguladoras pela planta e assim atuar de forma sinérgica, colaborando na tolerância à seca (MATOS et al., 2019). Estes organismos podem produzir auxinas como o ácido indolacético, aumentando o comprimento das raízes das plantas, conduzindo assim a uma maior absorção de água e nutrientes do solo (TURATTO et al., 2018).

Efeitos benéficos das BPCP na cultura do milho, melhorando a tolerância da planta ao déficit hídrico foram observados por Zarei et al. (2019). Estes autores relataram que *Pseudomonas*, podem melhorar o crescimento dos vegetais em condições de estresse hídrico, e que a inoculação de sementes de milho aumentou a tolerância ao estresse do déficit hídrico das plantas. Além disso, estudos usando BPCP evidenciaram um aumento significativo na absorção de macronutrientes como cálcio (Ca), N e P e micronutrientes como boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe) e zinco (Zn) (YADAV et al. 2020).

O sucesso do cultivo de milho verde em clima semiárido depende de adoção de novas tecnologias de produção e uso de produtos capazes de melhorar o desempenho da cultura sob escassez de água. O uso de bioinoculantes associado a aplicação de Co + Mo no milho verde irrigado pode contribuir para mitigar o déficit hídrico na cultura (FLORES et al., 2020). Entretanto, a adoção desta tecnologia pelos produtores só se tornará realidade quando forem demonstrados cientificamente seus benefícios sob diversas situações de clima e solo.

Portanto, a hipótese neste trabalho é de que os efeitos negativos do déficit hídrico na cultura do milho verde podem ser mitigados pelo uso de produtos contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas e Co + Mo, mantendo as trocas gasosas em níveis adequados ao desenvolvimento das plantas, aumentando a eficiência do uso da água e melhorando a nutrição mineral da cultura. Desta forma, neste trabalho objetivou-se avaliar as trocas gasosas, eficiência de utilização de água, nutrição mineral do milho verde em função de bioinoculantes contendo BPCP e Co + Mo, bem como sua influência sobre a disponibilidade de P e N no solo.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Exigências hídricas e efeitos do déficit hídrico na cultura do milho

O milho é uma das culturas de maior exigência hídrica, especialmente por se tratar de uma planta C4, as quais apresentam elevada taxa fotossintética e transpiração em comparação às plantas C3 (MARAMBE; MILAS, 2020). Entretanto, a cultura é eficiente na utilização de água, ou seja, para a mesma quantidade de água utilizada, produz uma quantidade de matéria seca muito superior a outras culturas menos eficientes.

A necessidade total de água na cultura do milho depende de diversos fatores, tais como capacidade de retenção de água no solo, duração do ciclo do genótipo e utilização dada à cultura (milho grão ou milho forragem), época de cultivo, evapotranspiração e da precipitação ocorrida durante o ciclo da cultura (WU et al., 2011).

As plantas C4 têm seus mecanismos fotossintéticos desenvolvidos para reduzir a fotorrespiração e economizar água e que elas são mais fotossinteticamente ativas que as plantas C3 (YERRAMSETTY et al., 2017). Lundgren e Christin (2016) realizaram um estudo mostrando como as variações anatômicas em plantas C4 também apresentam uma absorção mais eficiente de CO₂.

O milho pode ser cultivado em regiões onde as precipitações pluviométricas variam de 250 mm até 500 mm anuais, embora a quantidade de água consumida pela planta, durante seu ciclo, esteja em torno de 600 mm. A necessidade de água pelo milho, nos estádios iniciais de crescimento, num clima quente e seco, raramente excede 2,5 mm/dia. Durante o período compreendido entre o espigamento e a maturação, o consumo pode se elevar para 5 a 7,5 mm diários. Contudo, se a temperatura estiver muito elevada e a umidade do ar muito baixa, o consumo poderá chegar até 10 mm/dia (ANDRADE et al., 2006).

Santos et al. (2014) observaram que em condições semiáridas, a evapotranspiração total da cultura (Etc) do milho verde foi de 300,54 mm para um ciclo de 77 dias, com valor médio diário de 3,90 mm, valor mínimo de 1,94 mm e valor máximo próximo a 5,68 mm na fase de floração. Os mesmos autores encontraram os coeficientes de cultivo (Kc) de 0,50; 0,64; 1,12 e 1,11 para as diferentes fases fenológicas, que tiveram duração de 16, 20, 27 e 14 dias respectivamente, para o milho verde cv. AG 1051 nas condições edafoclimáticas de Mossoró/RN.

O déficit hídrico é definido como uma condição do suprimento inadequado de água nas plantas devido à disponibilidade limitada de água que resulta em efeitos prejudiciais nas plantas, portanto, este afeta negativamente os processos fisiológicos e bioquímicos causando decréscimo no turgor das células, imprescindível para o adequado metabolismo celular, como fotossíntese, atividade enzimática e absorção de nutrientes (FLORES, et al., 2020).

A deficiência hídrica provoca desidratação da célula, seguido por redução do potencial hídrico e da resistência hidráulica nos vasos do xilema. Entretanto, o fechamento estomático e as perdas de turgor que ocorrem sob estresse hídrico são devidos a um fornecimento esporádico de água do xilema para as células alongadas circundantes (TAIZ et al, 2017). Desta forma, o estresse hídrico severo torna - se prejudicial às relações hídricas das plantas, fotossíntese, absorção de íons, metabolismo de nutrientes e particionamento de assimilados (SAUD et al., 2016).

No milho o estresse hídrico causa atraso no surgimento de estigmas, resultando em aumento no intervalo entre a floração masculina e feminina e também em alta porcentagem de

zigotos abortados após a fertilização (BERNINI et al., 2016). Os efeitos secundários resultam em prejuízos na expansão foliar, atividades celulares e metabólicas, fechamento estomático, inibição fotossintética e abscisão foliar, cessando o crescimento da planta (TAIZ et al., 2017).

Os estádios de desenvolvimento da planta em que a deficiência hídrica mais afeta a produção de grão são o início da floração e o desenvolvimento da inflorescência, porque é nesta fase que é determinado o número potencial de grãos, o período de fertilização, ou seja, quando o potencial de produção é fixado (BARROS; CALADO, 2014). Nesta fase a presença de água é muito importante para não haver desidratação dos grãos de pólen e por último, a fase de enchimento do grão, quando ocorre o aumento na deposição de matéria seca.

O estresse hídrico geralmente aumenta a resistência difusiva ao vapor de água pelo fechamento dos estômatos, reduzindo a transpiração e conseqüentemente o suprimento de CO₂ para a fotossíntese (TAIZ et al., 2017). Esses eventos são decorrentes da redução da turgescência das células-guardas dos estômatos, seguidos pelo fechamento dos poros estomáticos, o decréscimo da difusão de dióxido de carbono (CO₂) da atmosfera até o sítio de carboxilação. Sendo esta considerada a principal causa da redução da fotossíntese, em condições de deficiência hídrica (PINHEIRO et al., 2011).

O milho submetido à deficiência hídrica durante o período vegetativo apresenta um índice de área foliar (IAF) ligeiramente reduzido, diminuindo assim a interceptação de luz durante o crescimento vegetativo e o acúmulo de carboidratos (COMAS et al., 2019). Da mesma forma que em qualquer momento durante o seu ciclo de crescimento, a planta é altamente sensível à seca, causando significativas perdas na sua produtividade (RUFINO et al., 2018).

No período de floração (VT), no qual o potencial de produção de grãos é determinado, a seca reduz o número de grãos, levando à dessecação do pólen e, portanto, a um aumento no intervalo de silenciamento da antese e na senescência foliar precoce (ARAUS et al., 2012). Finalmente, durante o período de enchimento de grãos (R3), o déficit hídrico reduz o suprimento de fotoassimilados na fonte, levando a perdas no peso dos grãos (KHODARAHMPOUR et al., 2011).

2. 2 Mecanismos de superação do estresse hídrico

A planta absorve água para suprir a sua necessidade em nutrientes que são transportados com a água e, para controlar a sua temperatura através da transpiração. No entanto, da totalidade da água absorvida pela planta, apenas cerca de 1% é retida pela própria planta. Desse modo, quando a disponibilidade hídrica é baixa, devido à pouca disponibilidade de água no solo ou

devido à elevada transpiração a planta desenvolve mecanismos fisiológicos que lhe permite reduzir a perda de água, como por exemplo, fechando os estômatos ou alterando o ângulo foliar e consequentemente reduzindo a incidência dos raios solares (BARROS; CALADO, 2014).

Com o fechamento dos estômatos a planta deixa de transpirar, mas também deixa de haver entrada de CO₂ nas células (MONTILLET et al., 2021) fazendo com que não se realize a fotossíntese e, portanto, a produção de biomassa (matéria seca) será afetada. Desta forma, dependendo do estágio de desenvolvimento em que a planta sofreu o déficit hídrico, este efeito pode proporcionar queda na produtividade em diferentes magnitudes (FLORES, et al., 2020).

A condição de estresse hídrico impõe a manifestação de diferentes tipos de mecanismos não específicos e de alta complexidade, de acordo com o grau de severidade do distúrbio. De acordo com Flores et al. (2020), os mecanismos de tolerância ao déficit hídrico incluem: (a) mecanismos de prevenção da desidratação celular (ajuste osmótico e respostas de endurecimento da parede celular); (b) mecanismos de tolerância à desidratação celular caracterizados pelo acúmulo de osmoprotetores, antioxidantes e, bem como a biossíntese de proteínas de proteção celular, incluindo proteínas de choque térmico e hidrofílicas.

Portanto, as plantas poderão promover mudanças nas atividades enzimáticas, aumentando a atividade das peroxidases, catalases, glutadionas, e redutases, bem como favorecer o acúmulo de antioxidantes (ácido ascórbico e tocoferol), de substâncias osmoticamente ativas (prolina, glicina, betaína e polinos), de outras substâncias do metabolismo secundário como os polifenóis, antocianinas e, sobretudo, a biossíntese de poliminas e de outros hormônios vegetais, como o ácido abscísico, ácido jasmônico e etileno (TAIZ et al., 2017).

As plantas de milho, quando expostas à deficiência hídrica, podem desenvolver mecanismos fisiológicos, morfo-anatômicos, bioquímicos e moleculares de adaptação. (LANGNER et al., 2019). As respostas ao estresse hídrico incluem a redução do potencial osmótico e perda de turgidez, acúmulo de substâncias solúveis na planta e aumento na quantidade de substâncias que são transportadas pela água para as folhas (TAIZ et al., 2017).

No entanto, ferramentas biotecnológicas como uso de marcadores moleculares, transformação genética, e modelagem através da bioinformática, associadas à seleção convencional, serão fundamentais para garantir o avanço na tolerância à deficiência hídrica em milho (LANGNER et al., 2019). Em resposta ao estresse hídrico as plantas acumulam vários osmólitos orgânicos, especialmente solutos orgânicos compatíveis, em resposta ao estresse osmótico. A principal função dos solutos compatíveis é manter o turgor celular e absorver mais água do solo. Alguns destes solutos orgânicos que podem ser acumulados nas plantas são

prolina no citosol que se acumulam nos cloroplastos; a citrulina, carboidratos solúveis e aminoácidos (MASOULEH et al., 2019).

2.3 Bactérias promotoras de crescimento de plantas como atenuantes do estresse hídrico

A utilização de bactérias na formulação de inoculantes ou biofertilizantes, vem sendo estudada e utilizada em várias partes do mundo (PANIGRAHI et al., 2019; DILNASHIN et al., 2020; MONTILLET et al., 2021). Há relatos que estas tecnologias podem reduzir os custos de produção e o impacto ambiental, devido ao uso de fertilizantes minerais, e aumentar a produtividade das culturas (EMAMI et al., 2020). Lima et al. (2019) apontam que estes produtos têm potencial para mitigar os efeitos negativos do estresse hídrico na cultura do milho.

As (BPCP) são microrganismos que podem melhorar o desempenho das plantas de várias maneiras, como por exemplo através da geração de compostos bioativos como aminoácidos, hormônios e enzimas (AFZAL et al., 2019). Entre as BPCP, estão as rizobactérias, que são bactérias que habitam a rizosfera e promovem uma variedade de benefícios para o crescimento de espécies vegetais, essas bactérias promovem direta ou indiretamente o crescimento das plantas por secreção de hormônios e enzimas, ou facilitando a absorção e o acúmulo de nutrientes como como N e P (AHEMAD; KIBRET, 2014).

O uso de inoculantes contendo isolados bacterianos pode aumentar as taxas de fixação de N e alterar a atividade das enzimas de assimilação do N (PEREIRA et al., 2019b), reduzindo a demanda por fertilizantes à base de nitrogênio e os custos de produção. Além de fixar N, as bactérias associadas ao solo podem melhorar o estabelecimento das plantas no campo, por exemplo, proporcionam às plantas um melhor desenvolvimento, por meio de diferentes mecanismos, liberação de nutrientes insolúveis (principalmente P e Fe) ou inibição do desenvolvimento de pragas e patógenos de plantas, produção de bactericidas, antifúngicos, hormônios vegetais tais como auxinas, citocininas, giberelinas, etileno e ácido abscísico e também pode sintetizar fito-hormônios como o ácido indol-3-acético (TURATTO et al., 2018).

BPCP estão associadas com a maioria das espécies vegetais, sendo capazes de estabelecer populações endofíticas nos diferentes tecidos e órgãos das plantas, sem causar qualquer sintoma visível de sua presença. No entanto, Panigrahi et al. (2019), estudando a caracterização de bactérias endofíticas *enterobacter cloacae* MG00145 isoladas de *Ocimum sanctum* com produção de ácido indólico acético (IAA) e capacidade de promover o crescimento de plantas, constataram que o isolado possui propriedades de promoção de crescimento múltiplo (produção IAA, solubilização de fosfato, produção de sideróforos e amônia).

Assim, o uso de fertilizantes biológicos pode ajudar a reduzir a poluição ambiental, o consumo de ureia e o esgotamento do solo proporcionando um melhor desempenho de plantas sob condições de estresse e, conseqüentemente, aumentar a produtividade das culturas (DILNASHIN et al., 2020).

Entre os tipos mais estudados de bactérias diazotróficas, o *Azospirillum* é destacado por seus efeitos positivos no desenvolvimento radicular, absorção de água e nutrientes e realizar a fixação biológica de nitrogênio (FBN), quando associado a gramíneas (QUATRIN et al., 2019). Aquino et al. (2019) estudando bactérias endofíticas promotoras de crescimento de plantas em milho e sorgo constataram que os isolados (*IPACC26*) e (*IPACC30*), ambos identificados como *Bacillus subtilis* tiveram melhor efeito sobre o acúmulo de N no milho.

Os modos de ação de BPCP são claramente diversos e nem todas as bactérias possuem os mesmos mecanismos (MONDANI et al., 2019). Esses mecanismos variam nas mudanças do conteúdo hormonal, produção de compostos voláteis, aumento da disponibilidade de nutrientes, além de aumentar a tolerância ao estresse por déficit hídrico via redução dos níveis de etileno nas raízes de plantas em desenvolvimento por hidrólise de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) deaminase (DIMKPA et al., 2009).

De acordo com Kasim et al. (2013), a presença das BPCP pode aumentar a produção de genes relacionados com o estresse hídrico e, conseqüentemente, promover tolerância às condições de estresse. Segundo Santos et al. (2014), a presença das BPCP pode aumentar a capacidade das plantas sob restrição hídrica realizarem o ajustamento osmótico pelo maior acúmulo de solutos orgânicos, quando comparadas com as plantas sob estresse hídrico e não inoculadas.

No estudo de Kavamura (2012), o milho sob estresse hídrico foi protegido pela linhagem de bactérias *Bacillus* sp (6.2 RZS 3) contra os efeitos do estresse hídrico, reduzindo a inibição do crescimento induzido pela seca. Esta proteção pode ter sido conferida pela produção de exopolissacarídios, biofilme e ACC deaminase. Entretanto Mondani et al. (2019) avaliando os efeitos de BPCP na eficiência do uso de radiação e no rendimento de soja (*Glycine max*) sob condição de estresse por déficit hídrico, ressalva que o BPCP poderia promover a produção de soja sob estresse hídrico, aumentando a eficiência da fotossíntese e do uso de radiação solar.

Segundo Dimkpa et al. (2009), além da produção de exopolissacarídeos e biofilme, a proteção do milho contra o estresse hídrico pode ser conferida com a produção de AIA e óxido nítrico que aumentam a proliferação radicular, aumentando sua capacidade de absorção de

água; alteração da elasticidade das membranas celulares alterando a tolerância à deficiência hídrica.

A biossíntese de enzima ACCA – aminocyclopropane -1-carboxylate deaminase, por algumas BPCP, quando a planta está submetida em situação de estresse, também é uma característica relevante no processo de promoção de crescimento de plantas, pois esta enzima age na diminuição dos níveis de etileno no solo. Visto que o excesso deste hormônio pode prejudicar o desenvolvimento vegetal ou mesmo causar a morte da planta (GLICK et al., 2014).

2. 4 Inter-relação entre déficit hídrico e nutrição mineral

A nutrição mineral desempenha um papel importante na aclimação ao estresse abiótico, pois regula as homeostases iônicas e, portanto, as respostas de tolerância à seca no milho verde podem ser melhoradas. Estresse por seca afeta a nutrição mineral das plantas, pois muitos nutrientes importantes, incluindo N, K, P, magnésio (Mg), Ca e outros minerais essenciais, são absorvidos pelas raízes das plantas, juntamente com água (UPADHYAYA; PANDA, 2019).

Em condições de baixa umidade do solo, as raízes do milho podem acessar a água em camadas mais profundas do solo, contudo, o N se move no solo em direção às raízes das plantas principalmente via fluxo de massa ou difusão, auxiliado pela transpiração (MCMURTRIE et al., 2018). Assim, o estresse hídrico atrasa o crescimento do milho e reduz a absorção de N, diminui a área foliar e conseqüentemente a concentração de fotoassimilados e, portanto, a produção de biomassa, comprometendo a produção (RUFINO et al., 2018).

Depois do N, o K é o elemento absorvido em maiores quantidades pelo milho, este nutriente é um dos principais elementos nutritivos que exigirá maior atenção para garantir a produção de grãos e a mitigação do estresse hídrico, pois além de melhorar a qualidade do milho esse nutriente melhora a tolerância à seca, melhorando o crescimento radicular, pressão do turgor celular e pressão osmótica (GNANASUNDARI et al., 2019).

Quando há diminuição da absorção de K, causada pelo baixo conteúdo de água no solo, a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO's) pode aumentar, devido o déficit hídrico causar distúrbios no mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos, o que reduz a fotossíntese e causa sobra de elétrons, os quais são desviados para a formação de ERO's (MONTILLET et al., 2021). Assim, em condições de estresse hídrico, a planta tem sua demanda por K aumentada, para manter a fotossíntese e proteger os cloroplastos de danos oxidativos, o K também é responsável pela translocação de fotoassimilados no floema e mantém a taxa

fotossintética da planta, o que evita o desvio de elétrons para a geração de ERO's (HASANUZZAMAN et al., 2018).

A alta taxa de transpiração induzida por K aumenta a absorção de nutrientes para aliviar os efeitos prejudiciais do estresse causado pela seca (ZHENG et al., 2021). Contudo, deficiências hídricas durante o cultivo de milho impõe uma grande limitação à absorção deste nutriente, pois o movimento radial de K em direção às raízes ocorre por fluxo de massa e principalmente por difusão, porém o movimento vertical de K ocorre fundamentalmente por fluxo de massa (ERNANI et al., 2007).

O P é o nutriente menos exigido na cultura do milho em termos de quantidade se comparado ao N e K (CASTRO et al., 2016). Entretanto, este nutriente é determinante na produção de grãos, visto que o P aumenta a eficiência do N absorvido o qual se une às cadeias carbônicas, incrementando, assim, a formação de novos tecidos (TAIZ et al., 2017) interferindo diretamente no desenvolvimento dos grãos.

De acordo com Fang et al. (2019) a difusão é o principal mecanismo de transporte do P no solo e essa é influenciada diretamente pelo conteúdo volumétrico de água no solo, ou seja, quanto menor a disponibilidade de água no solo menor será a taxa de absorção pela planta. Desta forma, a baixa umidade do solo diminui o transporte de P para as raízes e, por conseguinte a absorção pela planta (CASTRO et al., 2016).

Molibdênio (Mo), é um micronutriente necessário para plantas superiores que desempenha um papel vital em vários processos físico-bioquímicos da planta, como fotossíntese, biossíntese de clorofila, absorção de N e vias assimilatórias (RANA et al., 2020). Para ter atividade biológica, o Mo é complexado com o composto de pterina, formando assim o grupo protético denominado Moco. O Mo é um componente metálico na via de biossíntese do cofator (Moco). Assim, a deficiência de Mo interrompe a biossíntese de Moco e, portanto, restringe a atividade de enzimas essenciais que reduzem e assimilam N (NIE et al., 2016).

Rana et al. (2020) relatam que o Moco participa exclusivamente da síntese de ABA e, como resultado, desempenha um papel nas taxas de transpiração, nas relações hídricas e nas respostas relacionadas ao estresse e no controle estomático.

O Mo desempenha um papel essencial em muitos processos bioquímicos em plantas e é um constituinte da nitrogenase, que é a enzima que catalisa a redução do nitrogênio atmosférico (N_2) em amônia (NH_3), e é um cofator na enzima nitrato redutase, que é a enzima responsável pela redução do nitrato ($N-NO_3^-$) em nitrito (NO_2^-). Todavia as quantidades de Mo exigidas

pelas plantas são pequenas e sua aplicação em pequenas doses via semente, foliar ou fertirrigação geralmente supre a necessidade das culturas (ROYCHOUDHURY et al., 2021).

Embora o Mo seja o micronutriente menos exigido pelas plantas, sua carência no solo pode acarretar ineficácia da adubação nitrogenada, diminuindo a fixação biológica e a assimilação de N, devido à baixa atividade das enzimas envolvidas nestes processos. Portanto, as deficiências de Mo geralmente assemelham-se aos sintomas de carência de N, tais como, clorose generalizada em folhas mais velhas e, clorose malhada e eventualmente, necrose (escaldadura) devido ao acúmulo de nitrato nas folhas (MA et al., 2021).

O cobalto (Co), embora não seja um elemento essencial a todas as espécies vegetais, é um elemento benéfico e fundamental no processo de FBN (GERICÓ, et al., 2020). Os efeitos benéficos do suprimento de Co nas plantas têm sido associados à sua essencialidade aos rizóbios simbióticos que habitam nódulos de plantas e precisam de vitamina B₁₂ (cobalamina) para a atividade de várias enzimas envolvidas na fixação de nitrogênio.

Neste sentido, o Co é um componente estrutural da vitamina B₁₂ a qual é precursora da leg-hemoglobina, que por sua vez, impede a inativação da enzima nitrogenase por falta de oxigênio, outros efeitos benéficos relatados incluem retardo da senescência foliar por meio da inibição da biossíntese de etileno e aumento da resistência à seca em sementes (LANGE et al., 2016).

Nos processos de FBN Co e o Mo são fundamentais, uma vez que, em condições de baixa disponibilidade hídrica as plantas podem absorver menor quantidade de nutrientes como o N (VURUKONDA et al., 2016). Devido a este déficit de água, a absorção de N é limitada pela quantidade de N que entra em contato com as raízes, o que pode refletir em deficiência deste elemento mesmo sob alta concentração no solo (WANG et al., 2017). Além disso, o déficit hídrico altera a atividade das enzimas do metabolismo do N, e a taxa de crescimento do milho. Pesquisas recentes demonstram a dedicação especial que deve ser conferida ao Co e ao Mo, que contribuem de modo indireto no processo de FBN mitigando os efeitos do estresse hídrico (GERICÓ, et al., 2020; MA et al., 2021).

O metabolismo do N tem um papel importante na tolerância à seca, visto que os processos fisiológicos das plantas responsivas ao déficit hídrico envolvem o metabolismo do N, assim a maioria dos solutos e proteínas produzidos durante uma resposta ao estresse são compostos contendo N, como aminoácidos, amidas, betaínas (WANG et al., 2017).

Assim, a maior absorção de N pode atenuar os efeitos deletérios decorrentes do déficit hídrico nos cereais (MARQUES, 2019). Desta forma, o Mo e o Co, embora de forma indireta,

exercem um papel importante na tolerância das plantas à seca, uma vez que estão diretamente envolvidos no processo de assimilação de N.

Finalmente é importante destacar que embora o déficit hídrico altere a capacidade de absorção do N, a escassez de água no solo tem menor impacto na assimilação de N em plantas bem supridas com esse nutriente, pois em qualquer nível de déficit as plantas com alta nutrição nitrogenada apresentaram maior concentração foliar de aminoácidos solúveis e de proteínas solúveis totais (MA et al., 2021).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização da área experimental

A pesquisa foi desenvolvida , no período de julho a outubro de 2019, em condições de campo na Fazenda Experimental pertencente ao Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar - CCTA da UFCG, localizada no município de São Domingos - PB sob as coordenadas geográficas: 6° 48'52" de latitude sul e 37° 56'30" de longitude ao oeste de Greenwich. O clima, é do tipo tropical semiárido (Bsh) (Köppen), com temperatura média anual superior a 26,7 °C e precipitação pluviométrica média anual de 872 mm (COELHO; SONCIN, 1982). Os dados meteorológicos para o experimento (Figura 1) foram coletados no sistema de monitoramento agrometeorológico AGRITEMPO (AGRITEMPO, 2021). Durante a condução do experimento não ocorreu eventos de precipitação.

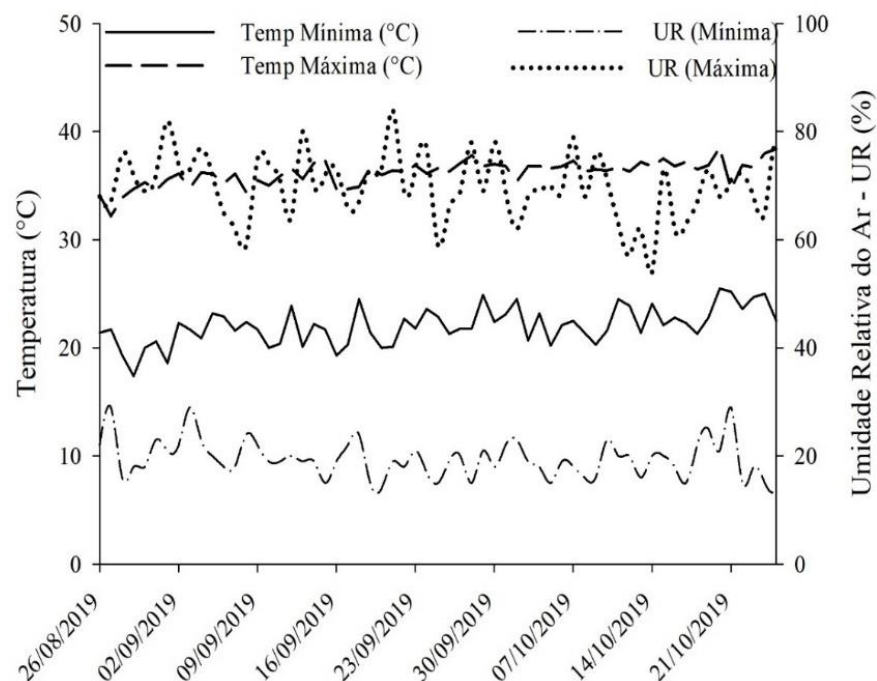


Figura 1. Dados climatológicos de temperatura e umidade relativa do ar durante o período experimental.

Antes da instalação do experimento, foi coletada uma amostra composta de solo da área, a partir de 15 amostras simples obtidas aleatoriamente na camada de 0 a 20 cm. O solo da área, classificado como PLANOSSOLO HÁPLICO eutrófico (EMBRAPA, 2013), foi analisado quanto aos atributos químicos e físicos (Tabela 1) no Laboratório de Solos e Nutrição de Plantas do CCTA/UFCG, conforme metodologia descrita em Embrapa (2011).

Tabela 1. Atributos químicos e físicos do solo na camada de 0-20 cm do solo PLANOSSOLO HÁPLICO utilizado antes da instalação do experimento.

Atributos químicos	Valor	Atributos físicos	Valor
pH (CaCl ₂)	5,61	Areia (g kg ⁻¹)	443,9
P (mg kg ⁻¹)	166	Silte (g kg ⁻¹)	353,1
K ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	1,07	Argila (g kg ⁻¹)	203,0
Na ⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,20	Ds (g cm ⁻³)	1,36
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	6,26	Dp (g cm ⁻³)	2,34
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	4,23	Pt (m ³ m ³)	0,42
H+Al (cmol _c dm ⁻³)	1,49		
M.O. (g kg ⁻¹)	13,71		
V (%)	88,75		
PST (%)	1,4		

P, K⁺ e Na⁺: Extrator Mehlich-1; H⁺+Al³⁺: Extrator acetato de cálcio 0,5 mol/L a pH 7; Ca²⁺, Mg²⁺: Extrator KCl 1mol L⁻¹; Ds = Densidade do solo; Dp = Densidade de partícula; Pt = Porosidade total; Mo = Matéria orgânica;

V (%) = valor de saturação por bases ($100 \times SB / CTC$); PST (%) = Porcentagem de sódio trocável ($100 \times Na^+ / CTC$).

3.2 Delineamento experimental e tratamentos

Os tratamentos consistiram de uma combinação fatorial (3 x 4), onde estes foram organizados em esquema fatorial de parcelas subdivididas. Os fatores primários (parcelas) foram compostos por três lâminas de irrigação (L1 = 60; L2 = 80 e L3 = 100 % da ETc) e os fatores secundários (subparcelas) constituíram-se de quatro tratamentos com bioinoculantes, C: controle, sem aplicação bioinoculantes; T1: *Bacillus subtilis*¹; T2: *Bacillus amyloliquefaciens*² mais *Azospirillum brasiliensis*³ e T3: Co + Mo, assim descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos correspondentes às subparcelas.

Tratamento	Descrição
C	Controle (sem aplicação bioinoculantes)
T1	Solo inoculado com <i>Bacillus subtilis</i> .
T2	Solo inoculado com uma mistura de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> e <i>Azospirillum brasiliensis</i> .
T3	Co + Mo na concentração de 0,3% de Co e 10% de Mo.

Fonte: Autor, 2021. Nota: Co = cobalto; Mo = molibdênio; UFC = Unidade formadora de colônia. *Bacillus subtilis*¹ incluiu $1,0 \times 10^8$ UFC mL⁻¹ por mL⁻¹ do bioinoculante registrado como Biobaci®. A mistura de *Bacillus amyloliquefaciens*² incluiu $1,0 \times 10^9$ UFC po mL⁻¹ do bioinoculante registrado como No-Nema®. e *Azospirillum brasiliensis*³ incluiu $1,8 \times 10^8$ UFC po mL⁻¹ do bioinoculante registrado como Azokop®.

Os tratamentos foram distribuídos em quatro blocos, perfazendo 12 parcelas por bloco e um total de 48 subparcelas no experimento. A área experimental apresentou as dimensões de 45,2 m de comprimento por 23 m de largura, totalizando 1.039,6 m². Dentro de cada parcela (lâminas de irrigação) foram alocadas quatro subparcelas, correspondentes ao segundo fator (bioinoculantes), constituídas por quatro fileiras duplas medindo 5,4 m de comprimento por 3,0 m de largura totalizando 16,2 m², sendo as duas fileiras duplas centrais correspondentes a área útil com 4 m² e 44 plantas onde foram realizadas avaliações na planta e no solo.

3.3 Preparo do solo semeadura e adubação

A limpeza da área e o preparo do solo foram feitos de forma mecânica, constituído pela realização de duas gradagens, sendo a primeira pesada e a segunda leve antes da semeadura, objetivando a desagregação e nivelamento do solo. posteriormente efetuou-se a abertura das covas.

O genótipo utilizado foi o híbrido de milho cv. AG 1051, que é um dos preferidos da maioria dos produtores. O semeio foi realizado manualmente em 26 agosto de 2019 (período

seco), em covas na profundidade de 5cm, em espaçamento de 0,2 m na linha de plantio. Aos 10 dias após a emergência realizou-se o desbaste para a obtenção de uma densidade média de 55.000 plantas por hectare.

A adubação mineral foi realizada de acordo com as recomendações do Manual de Recomendação de Adubação para o Estado de Pernambuco (CAVALCANTI, 2008), a partir da interpretação da análise de solo do experimento. A adubação de plantio consistiu da aplicação de 300 kg ha⁻¹ de um formulado N P e K, 10-10-10. A adubação de cobertura consistiu do fornecimento de 140 kg ha⁻¹ de N e 120 kg ha⁻¹ de K₂O, aplicados em duas parcelas iguais, aos 20 e 40 dias após a emergência. As fontes N, P e K utilizadas na adubação de cobertura foram ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente.

3.4 Controle fitossanitário

O controle de plantas daninhas foi feito com aplicação de glifosato na dosagem recomendada pelo fabricante, que tem a atrazina como princípio ativo, aos oito dias após a emergência das plantas, uma vez que o híbrido de milho utilizado no experimento é resistente ao produto. Embora o híbrido seja considerado resistente à lagarta do cartucho, durante a fase vegetativa houve necessidade de se realizar o controle desta praga utilizando o produto Lannate®BR, que tem como princípio ativo o Metomil, segundo as recomendações técnicas do produto para a cultura do milho.

3.5 Aplicação dos tratamentos

Os bioinoculantes referentes aos tratamentos T1, T2 e T3 (Tabela 2) foram aplicados na dose de 5 L ha⁻¹ conforme recomendação do fabricante. O tratamento T2 foi constituído pela mistura de 4 L ha⁻¹ do bioinoculante contendo *B. amyloliquefaciens* mais 1 L ha⁻¹ do bioinoculante contendo *A. Brasiliensis*. Todos os bioinoculantes foram aplicados em dose única, aos 15 dias após a emergência das plantas. A dose de 5 L ha⁻¹ de cada tratamento correspondeu a 8,1 mL, os quais foram diluídos em 4 L de água para aplicação nas subparcelas de 16,2 m², ou seja, 0,5 mL m² ou 5.000 mL ha⁻¹. Como cada parcela foi constituída por quatro linhas de 3,0 m, cada linha recebeu 1,0 L de água contendo os respectivos tratamentos, utilizando-se um regador manual.

3.6 Manejo das lâminas de irrigação

As plantas foram irrigadas por gotejamento, com espaçamento de 0,20 m. Após a germinação, as plantas foram irrigadas seguindo os diferentes níveis de lâminas de água. Os

testes de uniformidade de aplicação de água foram realizados de acordo com a metodologia de avaliação do Coeficiente de Uniformidade de Christiansen (CUC), proposto por Christiansen (1942). O controle do volume de água fornecido em cada lâmina foi feito de acordo com a razão da vazão dos gotejadores pelo tempo para atingir as proporções da evaporação de referência (ETc). À medida que atingido o intervalo de tempo para cada volume das respectivas lâminas, foram feitos os sucessivos desligamentos das fitas de gotejadores, correspondentes a cada lâmina.

A lâmina de irrigação correspondente a 100% foi obtida por meio do cálculo da ETc, conforme a Eq. 1 (JESSEN, 1968):

$$ETc = Kc * ETo.....(1)$$

Em que: ETc: Evapotranspiração da cultura (mm);

ETo: Evaporação de referência (mm);

Kc: Coeficiente de cultura (adimensional).

Os valores de Kc utilizados (Tabela 3) durante o ciclo da cultura foi estimado com base em dados da FAO e de pesquisas com cultura do milho em região semiárida (ALMEIDA et al., 2016; SANTOS et al., 2014).

O fornecimento diário das lâminas de irrigação foi realizado por meio do tempo de irrigação considerando as características do sistema de cultivo e do sistema de irrigação de acordo com Eq. 2:

$$Ti = \frac{Eto . Kc . A}{Ea . n . q}(2)$$

Em que:

Ti - tempo de irrigação, horas;

ETo - Evaporação de referência, mm/dia;

Kc - Coeficiente de cultura (adimensional);

A - área ocupada por uma planta, m²;

n - número de gotejadores por planta;

q - vazão do gotejador, L/h, e;

Ea - eficiência da aplicação (0,90).

Tabela 3. Valores de Kc utilizados no experimento durante o ciclo da cultura do milho.

Fase	Kc
Inicial	0,13
Fase vegetativa	0,55
Florescimento	1,00
Fase reprodutiva	1,20
Fase final	0,90

Kc - Coeficiente de cultivo

O volume da irrigação total necessária (ITN) de cada lâmina (Tabela 4.) foi obtido de acordo com Mantovani et al. (2009), utilizando-se a Eq. 3:

$$ITN = IRN/Ea \text{ (mm)} \dots\dots\dots(3)$$

Em que: IRN: irrigação necessária (mm); Ea: eficiência de aplicação (0,9)

Tabela 4. Valores totais das lâminas de irrigação utilizadas no experimento

Lâmina Total	ITN (mm)
L1 (ETc 60%)	317,505
L2 (ETc 80%)	423,34
L3 (ETc 100%)	529,175

Os valores de ETo, estimados pelo modelo de Penman-Monteith (ALLEN et al., 1998), foram obtidos durante a condução experimental da estação meteorológica do município de São Gonçalo, Paraíba, por ser a mais próxima ao local do experimento, através do site SISDAGRO (2021).

3.7 Avaliações nas plantas

3.7.1 Trocas gasosas e eficiência do uso da água

Para as avaliações de trocas gasosas das folhas de milho na fase de início do pendoamento (50 DAS), utilizou-se um analisador de gases no infravermelho (IRGA), modelo LCpro' (*Analytical Development*, Kings Lynn, UK) com fonte de luz constante de 2.000 pmol de fótons e concentração de CO₂ ambiente. Durante as leituras foram utilizadas duas plantas por subparcela no período da manhã, entre 9:00h e 11:00h, amostrando-se a terceira folha contada do ápice para a base do colmo. Os parâmetros fotossintéticos mensurados foram: concentração interna de CO₂ (Ci), taxa de transpiração (E), condutância estomática (gs), taxa de assimilação de CO₂ (A). De posse desses dados foram estimadas a eficiência intrínseca do uso da água - $EiUA$ (A/gs) e eficiência instantânea de carboxilação - $EiCi$ (A/Ci).

Aos 50 dias após a semeadura foram avaliadas, em 10 plantas por subparcela útil: massa fresca de folhas e massa fresca do colmo. Aos 70 dias após a semeadura 10 espigas por parcela útil foram colhidas e massa fresca total (espiga com palha) foi quantificada. Para fins de conversão da massa fresca de kg parcela⁻¹ para kg ha⁻¹ considerou-se a área da parcela útil e a corresponde população de plantas ha⁻¹. Os dados relacionados à massa fresca, foram apresentados no trabalho de Severo (2021) e foram utilizadas no presente trabalho no cálculo da eficiência do uso da água (EUA) considerando a massa fresca vegetativa (MF Veget) no início do surgimento da primeira espiga (50 dias após a semeadura) e considerando a massa fresca de espigas (MF Rep), conforme as Eqs. 4 e 5:

$$EUA (Veget) = \frac{MF\ Veget}{Lâmina\ (mm)} \dots\dots\dots(4)$$

$$EUA (esp) = \frac{MF\ Rep}{Lâmina\ (mm)} \dots\dots\dots(5)$$

Onde MF Veget correspondeu à soma da massa fresca de folhas e colmo, em kg ha⁻¹ e MF Rep correspondeu à massa fresca de espiga com palha, em kg ha⁻¹. A lâminas Veget e Rep corresponderam ao consumo de água em mm no intervalo de tempo para a produção de massa vegetativa e reprodutiva, respectivamente.

3.7.2 Análises na massa seca de folhas

A coleta de folhas para fins de análise foliar foi realizada na época do florescimento quando pelo menos 50% das plantas apresentavam a inflorescência feminina, conforme recomendam Cantarella et al. (1997). Em seis plantas de cada subparcela, foi coletada a primeira folha oposta e abaixo da espiga, da qual considerando-se, para análise, o terço médio, excluindo-se a nervura central. Posteriormente, o material foi levado ao laboratório de Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas do CCTA/UFCG para limpeza e posterior secagem em estufa de circulação forçada de ar a ±65°C.

Na massa seca foliar foram determinados os teores de N, K e P, conforme metodologia descrita por Malavolta et al. (1997). Por fim, os teores de amônio (N- NH₄⁺) e nitrato (N-NO₃⁻) foram determinados conforme Tedesco et al. (1995). De posse dos dados, obteve -se a fração de N mineral, através da equação: N mineral = (N- NH₄⁺) + (N-NO₃⁻) e pela soma entre o N total e N mineral obteve -se o N orgânico.

3.8 Avaliações no solo

3.8.1 Fósforo

Ao término de 60 dias da instalação do experimento, foram coletadas seis amostras simples na camada de 0-20 cm do solo, as quais formaram uma amostra composta em cada subparcela, nestas amostras, foram determinados os teores de P disponível, P, P total (Pt), P orgânico (Po) e fósforo inorgânico (Pi). Os teores de P disponível foram obtidos pelo extrator Mehlich-1, conforme metodologia da Embrapa (2011). O P solúvel em CaCl_2 ($0,01 \text{ mol L}^{-1}$) foi extraído conforme metodologia descrita por Houba et al. (2008).

As frações de fósforo total (Pt) e fósforo inorgânico (Pi) foram obtidas a partir da pesagem de amostras com massa de 0,5 g de solo de acordo com Pardo et al. (2003). Para determinação de Pi as amostras foram colocadas em um cadinho de porcelana e calcinado em um forno mufla (forno mufla MA 385) com faixa de aquecimento de 50 a 1200 °C e precisão de ± 5 °C, as orientações do fabricante foram seguidas para calibrar o forno.

A seguir as amostras foram aquecidas sequencialmente a 50,100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 e 550°C, após atingir a temperatura constante de 550°C a duração do aquecimento foi de 1h, as amostras foram removidas e deixadas resfriar em temperatura ambiente. Posteriormente, os resíduos das amostras com 0,5 g de solo (Pi calcinado) e (Pt não calcinado) foram transferidas para um tubo centrifuga de 50 mL e adicionadas a uma solução com 25 mL de H_2SO_4 na concentração de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de solução, depois os tubos foram mantidos sob agitação de 100 rpm por 16 horas em uma mesa agitadora orbital (Solab, SL-180). Enfim, as amostras foram centrifugadas a 4.000 rpm por 5 minutos para que houvesse a separação do líquido sobrenadante.

O fósforo total (Pt) e o fósforo inorgânico (Pi) foram determinados no líquido sobrenadante. As amostras foram preparadas pela mistura de 5 mL de extrato e adicionadas a uma alíquota com 10 mL da solução ácida de molibdato de amônio diluído e aproximadamente 30 mg de ácido ascórbico em pó. Deixou-se desenvolver a cor por 30 minutos, em seguida, efetuou-se a leitura no espectrofotômetro FEMTO® (modelo 600 Plus) de fluxo contínuo, no comprimento de onda de 660 nanômetros. O fósforo orgânico (Po) foi calculado pela diferença entre o Pt e o Pi.

3.8.2 Nitrogênio

Nas amostras de solo citadas no item 3.8.1, foram determinados os teores de N-NH_4^+ e N-NO_3^- pelo método do micro destilador de nitrogênio Kjeldhal, conforme descrito em Tedesco et al. (1995). Pelo método, foram adicionados 5 cm³ de TFSA em erlenmeyer de 125 mL de destilação, em seguida adicionou-se 50 mL de uma solução de KCl 1 mol L⁻¹. Posteriormente a suspensão foi agitada por 5 minutos. Do sobrenadante, foram tomados 20 mL para as análises posteriores. Inicialmente adiciona-se 0,2g de óxido de magnésio (MgO) calcinado em cada tubo de destilação. Após a destilação, foram obtidas as frações de N-NH_4^+ , por titulação com HCl 0,07143 mol L⁻¹, depois de terem sido recolhidas em indicadores com ácido bórico.

O N nítrico foi determinado utilizando-se o mesmo extrato (mesmo tubo) empregado para a destilação do amônio, adicionando-se 0,2g de liga de devarda e encaminhando-o para nova destilação. Em seguida, foi titulado com o mesmo ácido empregado para o N-NH_4^+ . De posse das concentrações de amônio e nitrato no solo, foram obtidas as concentrações de nitrogênio mineral. O nitrogênio mineral foi calculado somando-se o nitrogênio amoniacal e nítrico.

3.9 Análises estatísticas

Os resultados foram previamente submetidos à teste de detecção de outliers e, posteriormente testados quanto à normalidade (SHAPIRO; WILK, 1965) e homogeneidade de variância (LEVENE, 1960). Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância ($P < 0,01$ e $P < 0,05$). Posteriormente as médias das variáveis correspondentes aos fatores lâminas e bioinoculantes foram comparadas pelo teste de comparação de médias (Tukey) ($P < 0,05$) utilizando-se o *software* estatístico SISVAR (FERREIRA, 2019).

4. RESULTADOS

4.1 Trocas gasosas e eficiência do uso da água

Pela análise de variância, foi observado efeito da interação lâmina x bioinoculantes (L x B) para as variáveis concentração intercelular de CO_2 (C_i), transpiração (E), fotossíntese (A), eficiência instantânea de carboxilação (E_iC) e eficiência do uso da água (EUA Rep), enquanto a eficiência do uso da água (EUA veg) foi influenciada apenas pelas lâminas de irrigação (Tabela 5). A condutância estomática (g_s) e a eficiência intrínseca do uso da água (E_iUA) não foram afetados por nenhum dos fatores testados e nem por sua interação.

Tabela 5. Resumo da análise de variância do efeito de lâminas de irrigação (L) e bioinoculantes e Co + Mo (B) na concentração interna de CO₂ - (*Ci*), transpiração - (*E*), condutância estomática - (*gs*), taxa de assimilação de CO₂ - (*A*), eficiência intrínseca do uso da água - (*EiUA*) e eficiência instantânea de carboxilação - (*EiC*) em plantas de milho verde cv. AG 1051, aos 70 dias de idade.

Fator de variação	GL	QUADRADO MÉDIO			
		<i>Ci</i>	<i>E</i>	<i>gs</i>	<i>A</i>
Blocos	3	30,8524 ^{ns}	0,1255 ^{ns}	0,0244 ^{ns}	4,3897*
Lâminas (L)	2	321,7239*	0,2781 ^{ns}	0,0378 ^{ns}	9,0081**
Erro 1	6	57,4670	0,0574	0,0258	0,7857
Bioinoculantes e Co + Mo (B)	3	559,7135**	0,6162**	0,0224 ^{ns}	8,3920*
L x B	6	914,4322**	0,2894**	2,03 ^{ns}	7,8277**
Erro 2	27	42,3362	0,0531	0,0109	2,0956
CV 1 (%)	-	16,15	6,71	131,76	5,22
CV 2 (%)	-	13,86	6,44	81,65	8,52
		<i>EiUA</i>	<i>EiC</i>	EUA (veget)	EUA (Rep)
Blocos	3	308,3585 ^{ns}	0,011 ^{ns}	5845,25 ^{ns}	892,88 ^{ns}
Lâminas (L)	2	954,46 ^{ns}	0,0155 ^{ns}	141316,7**	22186,4**
Erro 1	6	1943,16	0,0096	2301,10	407,4797
Bioinoculantes e Co + Mo (B)	3	1957,13 ^{ns}	0,0995**	495,87 ^{ns}	1802,63**
L x B	6	1045,12 ^{ns}	0,0628**	2294,61 ^{ns}	237,28 ^{ns}
Erro 2	27	1318,16	0,0087	1300,65	293,71
CV 1 (%)	-	48,06	22,08	12,99	12,59
CV 2 (%)	-	39,58	21,09	9,77	10,69

Fonte: Autor, 2021. Nota: GL = Graus de liberdade; ns = não significativo; * e **, respectivamente, representa p<0,05 e p<0,01; CV1 = Coeficiente de variação relativo às lâminas de irrigação e CV2 = coeficiente de variação referente aos bioinoculantes e Co + Mo (subparcelas).

A partir dos resultados apresentados na Tabela 6 observou-se que os maiores valores de *Ci* foram proporcionados pela lâmina de 100% da ETc nos tratamentos com Co + Mo e o bioinoculante *Bacillus subtilis*. No tratamento com maior nível de estresse (60% da ETc), os bioinoculantes não afetaram a *Ci*.

Os valores observados de transpiração (*E*) e Condutância estomática (*gs*) não apresentaram diferenças significativas entre os bioinoculantes e as lâminas de irrigação. A fotossíntese (*A*) não foi influenciada pelos bioinoculantes estudados (Tabela 6) contudo com adição dos tratamentos com *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* e Co + Mo apresentou melhores resultados sob influência das lâminas de 80 e 100% da ETc, respectivamente. Para a eficiência intrínseca de carboxilação, os maiores valores foram observados nos tratamentos com *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* na lâmina de 100% da ETc.

Tabela 6. Concentração interna de CO₂ (*C_i*), transpiração (*E*), taxa de assimilação de CO₂ (*A*), eficiência intrínseca do uso da água - *EiUA* (*A/E*) e eficiência instantânea de carboxilação - *EiC* (*A/C_i*) em genótipo de milho verde cv. AG 1051 sob diferentes lâminas de irrigação, bioinoculantes e Co + Mo.

Tratamentos	Lâminas (% da ETc)		
	60	80	100
	----- <i>C_i</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹) -----		
Controle	41,37 aB	54,37 aA	42,00 aB
<i>B. subtilis</i>	42,00 aB	40,37 bB	60,87 bA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	39,62 aB	53,37 aA	23,25 dC
Co + Mo	45,12 aB	43,87 abB	77,12 aA
	----- <i>E</i> (mmol de H ₂ O m ⁻² s ⁻¹) -----		
Controle	3,56 abA	3,89 aA	3,50 aA
<i>B. subtilis</i>	3,20 bcB	3,46 aB	3,92 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	3,09 cB	3,65 aA	3,09 abB
Co + Mo	3,89 aA	3,46 aA	3,79 aA
	----- <i>A</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹) -----		
Controle	18,04 aA	17,88 aA	15,92 aA
<i>B. subtilis</i>	16,11 aA	17,51 aA	17,18 abA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	15,91 aAB	17,37 aA	14,31 bcB
Co + Mo	15,63 aB	18,58 aA	19,36 aA
	----- <i>g_s</i> (mol m ⁻² s ⁻¹) -----		
Controle	0,10 bA	0,11 aA	0,08 aA
<i>B. subtilis</i>	0,07bA	0,011aA	0,09aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	0,59 aA	0,36 aB	0,75 aA
Co + Mo	0,19 abA	0,10 aA	0,11 aA
	----- <i>EiC</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹) -----		
Controle	0,49 abA	0,38 aA	0,38 bA
<i>B. subtilis</i>	0,40 bA	0,45 aA	0,43 bA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	0,59 aA	0,36 aB	0,75 aA
Co + Mo	0,37 bAB	0,43 aA	0,26 bB

Fonte: Autor, 2021. Médias seguidas de mesmas letras minúsculas, nas linhas (bioinoculantes e Co + Mo) e; de mesmas letras maiúsculas nas colunas (lâmina de irrigação) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A Eficiência intrínseca do uso da água – *EiUA* não apresentaram diferenças significativas entre os bioinoculantes e as lâminas de irrigação (Tabela 7). Já a eficiência do uso da água (*EUA Rep*) e eficiência do uso da água (*EUA veget*) foram mais eficientes no nível de maior estresse (60% da ETc), correlacionado com os bioinoculantes apenas a *EUA Rep* foi

influenciada pelo efeito dos produtos em função da lâmina de 60%. Nas demais lâminas, os bioinoculantes testados praticamente não alteraram a EUA Veg e EUA Rep.

Tabela 7. Eficiência intrínseca do uso da água - *EiUA* (*A/E*), EUA veg, EUA rep em genótipo de milho verde cv. AG 1051 sob diferentes lâminas de irrigação, bioinoculantes e Co + Mo.

Tratamentos	Lâminas (% da ETc)		
	60	80	100
	----- <i>EiUA</i> ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)-----		
Controle	106,08 Aa	88,22 aA	86,85 aA
<i>B. subtilis</i>	100,05 aA	93,84 aA	115,19 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	46,18 aA	90,95 aA	82,29 aA
Co + Mo	83,78 aA	93,73 aA	112,19 aA
	----- (EUA veg) -----		
Controle	483,57 aA	307,25 aB	290,49 aB
<i>B. subtilis</i>	448,47 aA	336,34 aB	320,56 aB
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	465,31 aA	359,26 aB	289,73 aC
Co + Mo	503,86 aA	336,10 aB	287,05 aB
	----- (EUA rep) -----		
Controle	177,69 bA	133,44 aB	116,84 aB
<i>B. subtilis</i>	205,79 abA	160,11 aB	143,86 aB
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	219,08 aA	144,86 aB	137,28 aB
Co + Mo	208, abA	141,35 aB	134,35 aB

Fonte: Autor, 2021. Médias seguidas de mesmas letras minúsculas, nas linhas (bioinoculantes e Co + Mo) e; de mesmas letras maiúsculas nas colunas (lâmina de irrigação) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A maior eficiência de uso da água ocorreu para a produção de massa fresca vegetativa, especialmente no nível de estresse mais severo (60% da ETc). Este aspecto é particularmente importante, quando se faz a opção de cultivo do milho para silagem ou para produção de milho verde, levando-se em consideração o uso eficiente de água pela cultura.

4.2 Teores de N, P, K e frações de N nos tecidos foliares

A análise de variância revelou efeito significativo ($p < 0,01$) da interação (L x B) para os teores foliares de nitrogênio, fósforo, potássio, nitrato (N-NO_3^-), N mineral e N orgânico nos tecidos foliares do milho. Os teores de amônio (N- NH_4^+) não sofreram efeito em nenhum dos fatores estudados e nem da sua interação (Tabela 8).

Tabela 8. Resumo da análise de variância do efeito de lâminas de irrigação (L) e bioinoculantes (B) e Co + Mo para os teores foliares de N, P, K, nitrato (N-NO₃⁻), amônio (N- NH₄⁺), N mineral (N-NO₃⁻ + N- NH₄⁺) e N orgânico na massa seca de plantas de milho verde cv. AG 1051, aos 70 dias de idade.

Fator de variação	GL	QUADRADO MÉDIO			
		Nitrogênio	Fósforo	Potássio	
Blocos	3	3,6875 ^{ns}	0,0516*	2,3966*	
Lâminas (L)	2	107,7708**	0,0386 ^{ns}	56,1767**	
Erro 1	6	1,2708	0,0104	0,3279	
Bioinoculantes e Co + Mo (B)	3	125,4097**	0,0942*	4,1262	
L x B	6	154,4097**	0,1897**	12,4283	
Erro 2	27	2,8356	0,0289	2,1825	
CV 1 (%)	-	4,56	3,68	3,76	
CV 2 (%)	-	6,81	6,14	9,69	
		N-NH ₄ ⁺	N-NO ₃ ⁻	N mineral	N orgânico
Blocos	3	0,0081 ^{ns}	0,0019 ^{ns}	0,0066 ^{ns}	3,6196 ^{ns}
Lâmina (L)	2	0,0109 ^{ns}	0,0506*	0,0741*	103,5816**
Erro 1	6	0,0042	0,0067	0,0115	1,2479
Bioinoculantes e Co + Mo (B)	3	0,0032 ^{ns}	0,0896**	0,1206**	118,22**
L x B	6	0,0013 ^{ns}	0,1712**	0,1787**	145,0271**
Erro 2	27	0,0023	0,0056	0,0071	2,7927
CV 1 (%)	-	30,45	17,66	15,84	4,64
CV 2 (%)	-	22,57	16,09	12,39	6,95

Fonte: Autor, 2021. Nota: GL = Graus de liberdade; ns = não significativo; * e **, respectivamente, representa p<0,05 e p<0,01; CV1 = Coeficiente de variação relativo às lâminas e CV2 = coeficiente de variação referente aos bioinoculantes (subparcelas).

Os bioinoculantes *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* e *B. subtilis* proporcionaram os maiores teores de N nas lâminas de 80 e 100% da ETc. Já no nível de maior estresse não houve efeito significativo entre os produtos testados. No fator lâmina houve maiores teores nos níveis de estresse moderado (80% ETc) com os bioinoculantes *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* e *B. Subtillis* (Tabela 9).

O teor de amônio (N- NH₄⁺), não sofreu influência entre os bioinoculantes como também entre as lâminas de irrigação. No teor de nitrato (N-NO₃⁻), o bioinoculante apresentando *B. subtilis* permitiu valor máximo na lâmina de 100% da ETc, seguido do bioinoculante *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* na lâmina de 80% da ETc (Tabela 9). Ao avaliar o efeito das lâminas associado aos bioinoculantes, o *B. subtilis* é o que proporciona maior teor de N-NO₃⁻, no tecido foliar do milho.

Tabela 9. Teores foliares de N, nitrato (N-NO₃⁻), amônio (N- NH₄⁺), N mineral (N-NO₃⁻ + N-NH₄⁺) e N orgânico na massa seca do milho verde cv. AG 1051 cultivado sob influência das lâminas de irrigação (L), bioinoculantes (B) e Co + Mo.

Tratamentos	Lâminas (% da ETc)		
	60	80	100
	----- Nitrogênio total (g kg ⁻¹)-----		
Controle	22,00 abA	21,25 cA	23,25 bA
<i>B. subtilis</i>	23,50 aB	23,75 bcB	40,25 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	21,50 abB	32,00 aA	21,75 bB
Co + Mo	20,00 bB	26,75 bA	20,75 bB
	----- N- NH ₄ ⁺ (mg kg ⁻¹)-----		
Controle	0,18 aA	0,24 aA	0,20 aA
<i>B. subtilis</i>	0,19 aA	0,26 aA	0,26 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	0,17 aA	0,22 aA	0,23 aA
Co + Mo	0,19 aA	0,20 aA	0,21 aA
	----- N-NO ₃ ⁻ (g kg ⁻¹)-----		
Controle	0,54 aA	0,36 bB	0,36 bB
<i>B. subtilis</i>	0,41 abB	0,33 bB	0,94 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	0,46 abB	0,67 aA	0,41 bB
Co + Mo	0,36 bA	0,34 bA	0,41 bA
	----- N mineral (g kg ⁻¹)-----		
Controle	0,72 aA	0,60 bAB	0,56 bB
<i>B. subtilis</i>	0,60 abB	0,59 bB	1,20 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	0,63 abB	0,89 aA	0,64 bB
Co + Mo	0,55 bA	0,54 bA	0,62 bA
	----- N orgânico (g kg ⁻¹)-----		
Controle	21,28 abA	20,65 cA	22,69 bA
<i>B. subtilis</i>	22,90 aB	23,16 bcB	39,05 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	20,87 abB	31,11 aA	21,11 bB
Co + Mo	19,45 bB	26,21 bA	20,13 bB

Fonte: Autor, 2021. Médias seguidas de mesmas letras minúsculas, nas linhas (bioinoculantes e Co + Mo) e; de mesmas letras maiúsculas nas colunas (lâmina de irrigação) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para o teor de N mineral os bioinoculantes *B. subtilis* e *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* exerceram semelhantemente o efeito positivo como encontrado no teor de N-NO₃⁻ nas lâminas de 100 e 80% da ETc, respectivamente. Como ocorreu para o nitrato e N mineral, os tratamentos com *B. subtilis* e *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* proporcionaram o maior teor de N orgânico, estimado nas lâminas de 100 e 80% da ETc (Tabela 9).

Os teores de P não foram afetados pelos bioinoculantes, entretanto, nas lâminas de 60 e 80% da ETc no tratamento com *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* e nas lâminas de 60

e 100% da ETc com tratamento Co + Mo foram observados os maiores valores com efeito significativo, apresentando médias que variaram de 2,30 a 2,95, ficando dentro da faixa de suficiência (2,5 a 3,5 g/kg) (Tabela 10). O maior teor de P nos níveis de irrigação severo e moderado (60 e 80%) também pode ser observado.

Tabela 10. Teores foliares de P e K na massa seca do milho verde cv. AG 1051 cultivado sob influência das lâminas de irrigação (L), bioinoculantes (B) e Co + Mo.

Tratamentos	Lâminas (% da ETc)		
	60	80	100
	----- Fósforo (g kg ⁻¹) -----		
Controle	2,76 aA	2,83 aA	2,95 aA
<i>B. subtilis</i>	2,94 aA	2,71 abA	2,87 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	2,76 aA	2,92 aA	2,44 bB
Co + Mo	2,76 aA	2,39 bB	2,90 aA
	----- Potássio (g kg ⁻¹) -----		
Controle	18,09 aA	16,41 aA	13,79 abB
<i>B. subtilis</i>	17,99 aA	14,12 aB	12,93 bB
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	17,37 aA	11,07 bB	15,85 aA
Co + Mo	16,13 aA	14,25 aA	14,80 abA

Fonte: Autor, 2021. Médias seguidas de mesmas letras minúsculas, nas linhas (bioinoculantes e Co + Mo) e; de mesmas letras maiúsculas nas colunas (lâmina de irrigação) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O teor de K obteve comportamento semelhante ao de P, em que não se observou efeito entre os tratamentos testados, enquanto na interação L x B a aplicação do bioinoculante contendo *B. subtilis* acarretou maior influência na lâmina de 60% da ETc, de tal modo as lâminas de 60 e 100% da ETc com uso do bioinoculante contendo *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* permitiram melhores efeitos (Tabela 10).

Na aplicação do bioinoculante contendo *B. subtilis* sob a lâmina de 60% da ETc (Tabela 8) pode se observar efeito em comparação as demais lâminas, o que em hipótese pode-se confirmar que os microrganismos presentes nestes tratamentos podem ter mitigado o efeito do estresse hídrico sobre a absorção de K, tendo em vista que a difusão é o principal mecanismo que contato do K com as raízes das plantas a qual pode ser prejudicada pelo déficit hídrico.

Já nas demais lâminas o fato de não haver significância em comparação com o maior nível de estresse pode estar relacionado ao efeito de diluição, que pode ter sido a causa dos menores teores deste nutriente. De maneira geral, na maioria dos casos, os teores de K ficaram abaixo da faixa considerada ideal (17,5 a 22,5 g/kg) para a cultura do milho (MALAVOLTA et

al., 1997). Cabe ressaltar que não foram observados sintomas visuais de deficiência de K nem de P em nenhuma das lâminas de irrigação ou tratamentos testados.

4.3. Frações de nitrogênio e de fósforo no solo

Os teores de nitrato, amônio, N mineral ($N-NH_4^+ + N-NO_3^-$), fósforo inorgânico (Pi) e fósforo solúvel (P-CaCl₂) no solo sofreram efeito de interação L x B (Tabela 11). Os teores de fósforo total (Pt) e fósforo orgânico (Po) foram influenciados pelos bioinoculantes e lâminas de irrigação, enquanto os teores de fósforo orgânico (Po) e fósforo P Mehlich-1 foram afetados apenas de forma isolada pelas lâminas de irrigação.

Tabela 11. Resumo da análise de variância do efeito de lâminas de irrigação (L) e bioinoculantes (B) e Co + Mo para os teores de nitrato ($N-NO_3^-$), amônio ($N-NH_4^+$), N mineral, fósforo total (Pt), fósforo inorgânico (Pi), fósforo orgânico (Po), P-CaCl₂ e P Mehlich-1 no solo cultivado com plantas de milho verde cv. AG 1051, aos 70 dias de idade.

Fator de variação	GL	QUADRADO MÉDIO			
		Nitrato	Amônio	N mineral	Pt
Blocos	3	157,6388 ^{ns}	257,65 ^{ns}	733,35 ^{ns}	39761,56**
Lâminas (L)	2	4393,75**	158,34 ^{ns}	6214,62**	21759,00*
Erro 1	6	90,9722	97,2261	264,5887	2696,71
Bioinoculantes e Co + Mo (B)	3	9768,75**	1279,91**	18039,07**	36175,72**
L x B	6	4435,42**	552,799**	3595,13**	6071,609 ^{ns}
Erro 2	27	139,1204	145,1446	354,1738	7434,52
CV 1 (%)	-	9,48	27,36	11,90	3,48
CV 2 (%)	-	11,72	33,42	13,77	5,79
		Pi	Po	P CaCl ₂	P Mehlich-1
Blocos	3	30466,20**	769,0182 ^{ns}	18,7108 ^{ns}	2922,46 ^{ns}
Lâmina (L)	2	31919,00**	15853,92*	57,4214*	42401,25**
Erro 1	6	1294,58	1833,3176	6,5360	2345,51
Bioinoculantes e Co + Mo (B)	3	30555,47**	33358,56**	115,3071**	2792,14 ^{ns}
L x B	6	15559,09**	2023,941 ^{ns}	174,4027**	1392,598 ^{ns}
Erro 2	27	3750,56	2717,896	6,3867	1185,226
CV 1 (%)	-	2,79	19,73	48,60	11,25
CV 2 (%)	-	4,76	24,02	48,04	7,99

Fonte: Autor, 2021. Nota: GL = Graus de liberdade; ns = não significativo; * e **, respectivamente, representa $p < 0,05$ e $p < 0,01$; CV1 = Coeficiente de variação relativo às lâminas de irrigação e CV2 = coeficiente de variação referente aos bioinoculantes e Co + Mo (subparcelas).

No teor de nitrato ($N-NO_3^-$) o tratamento contendo *B. subtilis* promoveu maior valor na lâmina de 100% da ETc, na comparação entre os bioinoculantes nas diferentes lâminas se observa que houve uma grande variação de efeito entre os bioinoculantes (Tabela 12). Com

comportamento semelhante ao teor de nitrato no solo, *B. subtilis* acarretou efeitos superiores associado a lâmina de 80% da ETc nos teores de amônio (N- NH₄⁺), no solo, em que as lâminas de 80 e 100% da ETc promoveram maiores valores com este produto em comparação com a de 60% da ETc.

Tabela 12. Teores de nitrato (N-NO₃⁻), amônio (N- NH₄⁺) e N mineral (N-NO₃⁻ + N- NH₄⁺), no solo cultivado com milho verde cv. AG 1051 em função das lâminas de irrigação e bioinoculantes e Co + Mo.

Tratamentos	Lâminas (% da ETc)		
	60	80	100
	----- N-NO ₃ ⁻ (mg dm ⁻³) -----		
Controle	80,00 cA	72,50 bA	70,00 cA
<i>B. subtilis</i>	137,50 aB	82,50 bC	197,50 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	65,00 cB	110,00 aA	80,00 cB
Co + Mo	105,00 bB	80,00 bC	127,50 bA
	----- N-NH ₄ ⁺ (mg dm ⁻³) -----		
Controle	40,00 aA	15,00 bB	27,50 bAB
<i>B. subtilis</i>	35,00 aB	62,50 aA	55,00 aAB
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	35,00 aA	20,00 bA	37,50 abA
Co + Mo	32,50 aA	35,00 bA	37,50 abA
	----- N mineral (mg dm ⁻³) -----		
Controle	120,00 bcA	87,50 bB	97,50 cAB
<i>B. subtilis</i>	172,50 aB	145,00 aB	252,50 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	100,00 cA	130,00 aA	117,50 cA
Co + Mo	137,50 abAB	115,00 abB	165,00 bA

Fonte: Autor, 2021. Médias seguidas de mesmas letras minúsculas, nas linhas (bioinoculantes e Co + Mo) e; de mesmas letras maiúsculas nas colunas (lâmina de irrigação) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pelo teste de Tukey, os maiores teores de N Mineral foram proporcionados pelo bioinoculante contendo *B. subtilis* na lâmina de 100% da ETc que foi superior aos demais tratamentos, enquanto os bioinoculantes *B. Subtillis* e *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* juntamente com Co + Mo foram semelhantes entre si e superiores ao tratamento controle na lâmina de 80% da ETc, respectivamente (Tabela 12). Com tais resultados se pode confirmar que o bioinoculante *B. subtilis* elevou os teores de N Mineral no solo na lâmina de 100% da ETc.

Os teores de fósforo total (Pt), fósforo inorgânico (Pi) e P-Mehlic-1 não foram influenciados estatisticamente pelos fatores estudados, ou seja, tanto pelos bioinoculantes quanto pelos níveis de irrigação (Tabela 13).

Tabela 13. Teores de P total, fósforo inorgânico, P orgânico, P solúvel em CaCl₂ e P-Mehlic-1 no solo cultivado com milho verde cv. AG 1051 em função das lâminas de irrigação e bioinoculantes e Co + Mo.

Tratamentos	Lâminas (% da ETc)		
	60	80	100
	----- P total (mg dm ⁻³)-----		
Controle	1424,55 aA	1484,39 abA	1471,37 aA
<i>B. subtilis</i>	1386,06 aA	1453,21 bA	1449,31 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	1519,04 aA	1510,22 abA	1496,31 aA
Co + Mo	1460,66 aB	1630,56 aA	1572,28 aAB
	----- Fósforo inorgânico (mg dm ⁻³)-----		
Controle	1232,34 abB	1353,64 aA	1349,05 aA
<i>B. subtilis</i>	1179,22 bB	1156,96 bB	1293,99 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	1337,26 aA	1272,29 abA	1304,05 aA
Co + Mo	1209,29 bB	1369,33 aA	1367,87 aA
	----- P orgânico (mg dm ⁻³)-----		
Controle	171,72 bA	168,51 bA	122,32 bA
<i>B. subtilis</i>	168,28 bB	255,34 abA	187,91 abAB
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	212,87 abA	256,32 abA	218,84 abA
Co + Mo	274,15 aAB	329,32 aA	238,88 aB
	----- P solúvel em CaCl ₂ (mg dm ⁻³)-----		
Controle	6,53 bA	0,81 cB	8,32 aA
<i>B. subtilis</i>	0,79 cB	11,50 aA	1,55 bB
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	0,88 cA	3,08 bcA	1,57 bA
Co + Mo	20,20 aA	6,04 bB	1,81 bB
	----- P-Mehlic-1 (mg dm ⁻³)-----		
Controle	367,13 aB	437,15 aA	430,63 aAB
<i>B. subtilis</i>	388,54 aB	484,61 aA	471,50 aA
<i>B. amyloliquefaciens</i> + <i>A. brasiliensis</i>	381,62 aB	481,86 aA	417,94 aAB
Co + Mo	358,24 aB	494,78 aA	450,89 aA

Fonte: Autor, 2021. Médias seguidas de mesmas letras minúsculas, nas linhas (bioinoculantes e Co + Mo) e; de mesmas letras maiúsculas nas colunas (lâmina de irrigação) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os teores de P orgânico (Po) foram superiores com os bioinoculantes *B. Subtilis* e *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* juntamente com Co + Mo nas lâminas de 80 e 100% da ETc. Na lâmina de 60% da ETc, apenas o bioinoculante *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* e o tratamento com Co + Mo foram superiores em comparação ao *B. Subtilis* e ao tratamento controle (Tabela 13).

Na lâmina de 60% os teores de P solúvel em CaCl₂ foram superiores no tratamento Co + Mo. Na lâmina de 80% o bioinoculante *B. Subtillis* foi superior aos demais bioinoculantes e ao controle, comprovando que Co + Mo e *B. Subtillis* aumentam os teores de P solúvel em função dos níveis de irrigação.

5. DISCUSSÃO

Sob déficit hídrico severo e moderado (lâminas de 60 e 80% da ETc), as plantas de milho fecharam os estômatos (diminuição da condutância estomática) para diminuir a perda de água. Este resultado foi acompanhado pela diminuição da taxa fotossintética, diminuição da concentração interna de CO₂ e da taxa de transpiração, especialmente no tratamento controle.

O comportamento entre as lâminas para *gs* também foi observado em outros trabalhos (SOUSA et al., 2014; SILVA et al., 2015) e pode ser um indicativo de uma superestimativa da necessidade hídrica do milho (lâmina de 100% da ETc) neste experimento, uma vez que na aplicação dos bioinoculantes com *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* acarretou tais efeitos, enquanto nos demais bioinoculantes não se observou comportamento significativo.

Entre os bioinoculantes testados não houve alteração dos valores de *E*, *gS* e *EiUA*, ou seja, tanto em condições de estresse hídrico (60% e 80% da ETc) quanto sob fornecimento adequado (100% da ETc) de água. As ausências de efeito nos mecanismos fisiológicos mencionados não foram consistentes e claramente definidas, uma vez que o estresse afeta consideravelmente tais variáveis.

Estes resultados, em parte, divergem dos observados por outros autores (TIEPO et al., 2018; LIMA et al., 2019; SANTANA et al., 2020). Neste sentido, Tiepo et al. (2018) observaram que inoculação com *A. brasilense* e *B. amyloliquefaciens* induziu a aumentos na taxa fotossintética e eficiência instantânea da carboxilação quando as plantas foram submetidas a seca moderada. Este efeito benéfico de *A. brasilense* e *B. amyloliquefaciens* sobre a *EiC* para plantas de milho, não está relacionada necessariamente a fatores estomatais, mas também a manutenção ou aumento na atividade das enzimas presentes no ciclo de Calvin, como a ribulose 1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (RHO; KIM, 2017).

De forma similar, Lima et al. (2019) observaram que cepas de *B. Subtillis* foram capazes de atenuar o estresse hídrico em milho e feijão por meio da manutenção da taxa fotossintética similar às plantas sem déficit hídrico, uso mais eficiente da água e maior taxa de carboxilação instantânea. Contudo, neste mesmo trabalho, os autores observaram que *B. Subtillis* não alterou a taxa fotossintética do milho e do feijão, mas diminuiu a taxa de transpiração de ambas as espécies.

Os efeitos dos microrganismos sobre as trocas gasosas, em certa medida são difíceis de caracterização, tendo em vista que sua atuação na rizosfera pode gerar enzimas, hormônios, ácidos orgânicos, e diversas substâncias que podem promover a bioativação do solo, alterar as comunidades microbianas e os atributos químicos do solo, os quais, em última instância pode afetar o metabolismo geral da planta (VACHERON et al., 2013; ETESAMI et al., 2017; AQUINO et al., 2019; SANTANA et al., 2020).

Os bioinoculantes e/ou tratamentos afetaram a eficiência do uso da água para a produção de massa seca vegetativa e reprodutiva, os quais foram reduzidos com o aumento da lâmina de irrigação. A diminuição da eficiência do uso da água para a produção de massa fresca vegetativa e reprodutiva é decorrente da desproporcionalidade entre a produção de massa fresca e a quantidade de água fornecida às plantas (PEREIRA et al., 2019a; SEVERO, 2021) e do fato da restrição hídrica diminuir a área foliar e conseqüentemente a taxa de transpiração (TAIZ et al., 2017).

O efeito mais consistente dos bioinoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas ou Co + Mo foi a melhoria na nutrição nitrogenada do milho, demonstrada pelo aumento nos teores de N total e mineral, principalmente com a utilização de *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliense* e *B. subtilis*.

Este efeito possivelmente é devido à ação do *Azospirillum B.*, tendo em vista que *B. amyloliquefaciens* está mais relacionado com a solubilização de minerais silicatados e não à fixação biológica (ETESAMI et al., 2017). Marques et al. (2019) também observaram aumento no teor foliar de N do milho em função da inoculação de diversas estirpes de *Azospirillum B.*, tanto em condições de déficit hídrico, quanto sob suprimento adequado de água. Da mesma forma, Aquino et al. (2019) observaram aumento nos teores foliares de N e de clorofila na cultura do sorgo e do milho devido a inoculação com diversas estirpes de *B. subtilis*, em comparação ao tratamento sem inoculação e sem adubação nitrogenada. De acordo com os autores, esse efeito foi decorrente da capacidade de *B. subtilis* em fixar N atmosférico.

A restrição hídrica pode diminuir a absorção de nutrientes como N e K, os quais chegam até às raízes por fluxo de massa e por difusão, respectivamente (MALAVOLTA et al., 1997). Contudo, de maneira geral, os bioinoculantes contendo microrganismos melhoraram a nutrição nitrogenada do milho. Além da fixação biológica proporcionada pelas bactérias *A. brasiliensis*, os microrganismos podem influenciar a absorção de nutrientes por meio de diversos mecanismos, tais como a liberação de ácidos orgânicos e modificações na arquitetura da raiz, que são relacionados ao aumento do número de radículas e comprimento da raiz, levando a uma

maior exploração do solo (VACHERON et al., 2013) e absorção de nutrientes (DAR et al., 2018; PLETT et al., 2020). Estes mecanismos podem ter aumentado a capacidade de absorção de N-NO_3^- indiretamente como consequência do desenvolvimento radicular lateral e, possivelmente, diretamente pela estimulação dos sistemas de transporte de N-NO_3^- como demonstrado por Mantelin e Touraine (2004).

No solo, os bioinoculantes contendo *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliense* e o tratamento com Co + Mo, de forma consistente, aumentaram os teores de nitrato, amônio, N mineral e fósforo orgânico. A atuação de *B. subtilis* no aumento de N mineral no solo, especialmente nitrato, pode ter ocorrido de diversas formas, como a diminuição da volatilização de N na forma de NH_3 após a mineralização (SUN et al., 2020), por aumento da diversidade de microrganismos envolvidos na mineralização da matéria orgânica (HUANG et al., 2020), por sua atuação direta na decomposição da matéria orgânica e mineralização de N (LOPES et al., 2020) ou pelo estímulo do crescimento de raízes e aumento do teor de matéria orgânica do solo (não avaliado no presente trabalho) como tem sido sugerido por alguns autores (DAR et al., 2018; PLETT et al., 2020).

Lu et al. (2021) demonstraram que *B. subtilis* aumentou os teores N-NO_3^- e de N-NH_4^+ do solo em comparação ao tratamento sem aplicação desta bactéria, entretanto, os autores não conseguiram explicar as causas deste aumento. O efeito positivo do Co + Mo sobre as formas minerais de N podem ter sido de forma indireta, a exemplo do aumento da fixação biológica de N_2 pelas bactérias nativas de vida livre ou pelo aumento da atividade biológica do solo e mineralização da matéria orgânica.

O déficit hídrico não influenciou os teores de Pt, Pi e P disponível (Mehlich-1). Tais resultados divergem dos encontrados por Olatunji et al. (2018), que observaram diminuição da disponibilidade de P no solo sob déficit hídrico. Sob restrição hídrica, provavelmente ocorre diminuição dos teores de carbono orgânico, da exsudação radicular e menor atividade microbiológica do solo, os quais interferem positivamente na geração de formas mais lábeis de P (NUNES et al., 2020). Este fato foi corroborado pelo aumento do teor de P orgânico, devido à aplicação dos bioinoculantes contendo bactérias benéficas ou Co + Mo, em comparação ao controle. O aumento do P orgânico do solo é importante porque diminui a quantidade de P fixado e aumenta a disponibilidade deste nutriente para as plantas (RANA et al., 2020), embora os teores de P disponível no solo da área utilizada neste trabalho foi alta, mesmo antes da adubação (Tabela 1).

Os maiores teores de fósforo orgânico, considerando as lâminas estimadas de 80 e 100% da ETc foi superior com a aplicação de *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliense* e Co + Mo. A capacidade de diversos isolados de *B. subtilis* em solubilizar fosfatos tem sido atestada em outros trabalhos (MOHAMED et al., 2018; SAEID et al., 2018). A liberação de ácidos orgânicos por estas bactérias é a causa mais provável para o aumento de formas solúveis de fósforo (SAEID et al., 2018).

Em relação ao Co + Mo, seu efeito no aumento do teor de P solúvel, provavelmente deve-se ao Molibdênio. Rana et al. (2020) observaram que a aplicação de molibdênio via solo, em feijão e soja, aumentou os teores de fósforo solúvel em água do solo rizosférico, em 28,5% e também elevou a atividade da enzima fosfatase ácida no solo. Entretanto, embora a dose de Mo aplicada via Co + Mo (10% de Mo) no solo tenha sido relativamente baixa (500 g ha⁻¹), não se pode desconsiderar totalmente o fato do ânion molibdato (MoO₄⁻²) competir pelos mesmos sítios de adsorção do fosfato (H₂PO₄⁻²), contribuindo assim, também para aumentar os teores de P orgânico e P solúvel (VISTOSO et al., 2012).

6. CONCLUSÕES

O nível de estresse hídrico mais severo (60% da ETc), promoveu uma maior eficiência de uso da água para a produção de massa fresca vegetativa.

Os produtos contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas ou Co + Mo não interferiram de forma consistente na taxa fotossintética, exceto para com a concentração interna de carbono (Ci), enquanto a eficiência do uso da água no milho verde é maior nos níveis de irrigação severo e moderado.

Os bioinoculantes contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas; especialmente *B. amyloliquefaciens* mais *A. brasiliensis* e *B. subtilis* promoveram melhoria na nutrição nitrogenada do milho com o aumento no teor de N total e mineral nos tecidos foliares, mas não alteraram de forma consistente, os teores de P e K.

O bioinoculante *B. subtilis* e Co + Mo aumentaram os teores de nitrogênio mineral e os teores de fósforo solúvel e orgânico no solo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFZAL, I. et al. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. **Microbiological Research**, v.221, p.36-49, 2019.
- AGRITEMPO. Sistema de Monitoramento Agrometeorológico: Estações meteorológicas para o estado da PB. Brasil, 2021. Disponível em: https://www.agritempo.gov.br/agritempo/jsp/Estacao/index.jsp?siglaUF=PB&lang=pt_br. Acesso em: 23 junho de 2021.
- AHEMAD, M. et al. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. **Journal of King Saud University - Science**, v.26, n.1, p.1-20, 2014.
- ALLEN, R.G. et al. Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Water Requirements. FAO Irrigation and Drainage Paper 56; Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy, 1998.
- ALMEIDA, B.M. **Déficit e excesso hídrico na cultura do milho (*Zea mays* L.) em ambiente protegido**, ESALQ, 2016. 124p. Tese (Doutorado em Engenharia de Sistemas Agrícolas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade Federal de São Paulo, Piracicaba, SP.
- ANDRADE, C.L.T. et al. **Viabilidade e Manejo da Irrigação da Cultura do Milho**. Sete Lagoas-MG, 2006. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/490417/1/Circ85.pdf>. Acesso em: 22 agosto de 2021.
- AQUINO, J.P.A. et al. Bactérias endofíticas promotoras de crescimento de plantas em milho e sorgo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.49, p.1-9, 2019.
- ARAUJO, J.L. et al. Crescimento e produção do arroz sob diferentes proporções de nitrato e de amônio. **Revista Brasileira Ciência Solo**, v.36, p.921-930. 2012.
- ARAUS, J.L. et al. Phenotyping maize for adaptation to drought. **Frontiers in Physiology**, v.3, n.305, p.1-20, 2012.
- BARROS, J.F.C.; CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Évora: Universidade de Évora, 2014. 52 p
- BERNINI, C.S. et al. Caracteres fisiológicos e agrônômicos em progênies interpopulacionais de milho selecionados sob condições de déficit hídrico. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.15, p.39-52, 2016.
- CANTARELLA, H. et al. **Cereais**. In: RAIJ, B.V.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J.A. (Eds.). Recomendação de adubação e calagem para o Estado de São Paulo. Campinas-SP, IAC, 1997. p.45-71.
- CASTRO, L.R. et al. Doses e formas de aplicação de fósforo na cultura do milho. **Revista Agrarian**, v.9, n.31, p.47-54, 2016.
- CAVALCANTI, F.J.A. et al. Recomendações de adubação para o estado de Pernambuco: 2ª aproximação. Recife: Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA, 2008. 212p.
- CHRISTIANSEN, J.E. **Irrigation by sprinkling**. Berkeley, University of California: Agricultural Experiment Station, 1942. 124p.

- COELHO, M.A.; SONCIN, N.B. **Geografia do Brasil**. São Paulo: Moderna, 1982. 368p.
- COMAS, L.H. et al. Water productivity under strategic growth stage-based deficit irrigation in maize. **Agricultural Water Management**, v.212, p.433-440, 2019.
- DAR, Z.M.; et al. Review on Drought Tolerance in Plants Induced by Plant Growth Promoting Rhizobacteria. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. v.7, n.3, p.2802-2804, 2018.
- DILNASHIN, H. et al. **Applications of agriculturally important microorganisms for sustainable crop production**. In: Sharma, V.; Salwan, R.; Khalil, L.; Al-Ani, T. (Eds.). *Molecular Aspects of Plant Beneficial Microbes in Agriculture*, Índia: Academic Press-Elsevier, 2020. p.403-415.
- DIMKPA, C. et al. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. **Plant, Cell and Environment**, Germany, v.32, n.1, p.1682-1694, 2009.
- EMAMI, S. et al. Consortium of endophyte and rhizosphere phosphate solubilizing bacteria improve phosphorous use efficiency in wheat cultivars in phosphorus deficient soils. **Rhizosphere**, v.14, e100196, 2020.
- EMBRAPA - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 2011. 225 p.
- EMBRAPA - Empresa brasileira de pesquisa agropecuária. **Sistema brasileiro de classificação do solo**. Brasília: EMBRAPA, 2013. 20p
- ERNANI, P.R. et al. Mobilidade vertical de cátions influenciada pelo método de aplicação de cloreto de potássio em solos com carga variável. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, n.2, p.393-402, 2007.
- ETESAMI, H. et al. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v.17, p. 897-911, 2017.
- FALOYE, O.T. et al. Effects of biochar and inorganic fertiliser applications on growth, yield and water use efficiency of maize under deficit irrigation. **Agricultural Water Management**, v.217, p.165-178, 2019.
- FANG, Y. et al. An efficient three-dimensional rhizosphere modeling capability to study the effect of root system architecture on soil water and reactive transport. **Plant and Soil**, Dordrecht, v.44, p.33-48, 2019.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v.37, n.4, p.529-535, 2019.
- FERREIRA, E.P.B. et al. Crescimento de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) influenciado pela inoculação com bactérias promotoras de crescimento de plantas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.3, p.655-665, 2014.
- FLORES, C. et al. **Salinity and water deficit. The Genus Citrus**, In: MANUEL, T.; MARCO, C.; FRED, G. (Eds.). *The genus citrus*. Amsterdam: Elsevier, 2020. p.291-309.
- GERICÓ, T.G. et al. Cobalt and molybdenum stimulate compounds of primary metabolism, nitrogen forms, and photosynthetic pigments in peanut plants (*Arachis hypogaea* L.). **Journal of Plant Nutrition**, v.43, n.12, p.1907-1922, 2020.

- GESSLER, A. et al. The role of nutrients in drought-induced tree mortality and recovery. **New Phytologist**, v.214, n.2, p.513-520, 2017.
- GLICK, B.R. et al. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, v.169, n.1, p.30-39, 2014.
- GNANASUNDARI, R. et al. Effect of Potassium on Growth, Yield and NPK Uptake of Hybrid Maize in Black Calcareous Soil. **Madras Agricultural Journal**, v.106, n.1-3, p. 32-37, 2019.
- HASANUZZAMAN, M. et al. Potassium: A Vital Regulator of Plant Responses and Tolerance to Abiotic Stresses. **Agronomy**, v.8, n.31, p.1-29, 2018.
- HOUBA, V.J.G. et al. Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.31, p.1299-1396, 2008.
- HUANG, Y. et al. Effects of different application methods of *Bacillus subtilis* agent on soil microbial diversity and growth of muskmelon. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2020, v. 36, n12, p. 2644-2656, 2020.
- JESEN, M.E. **Water consumption by agriculture plantes**. In: KOZLOWSKI, T.T. et al. (Eds.). *Water deficitrowth*. New York, Academic Press-Elsevier, 1968. p.1-19.
- KASIM, W.A. et al. Control of Drought Stress in Wheat Using Plant-Growth-Promoting Bacteria. **Journal of Plant Growth Regulation**, v.32, n.1, p.122-130, 2013.
- KAVAMURA, V.N. **Bactérias Associadas às Cactáceas da Caatinga: Promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico**, ESALQ, 2012. 246p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP.
- KHODARAHMPOUR, Z. et al. Evaluation of drought tolerance in different growth stages of maize (*Zea mays* L.) inbred lines using tolerance indices. **African Journal of Biotechnology**, v.10, p.13482-13490, 2011.
- LANGE, B. et al. Copper and cobalt accumulation in plants: a critical assessment of the current state of knowledge. **New Phytologist**, v.213, n.2, p.537-551, 2016.
- LANGNER, J.A. et al. Maize: Key agricultural crop in food security and sovereignty in a future with water scarcity. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.23, n.9, p.648-654, 2019.
- LEVENE, H. **Contributions to probability and statistics**, Stanford: Stanford University Press, 1960, 278-292
- LIMA, B.C. et al. *Bacillus subtilis* ameliorates water stress tolerance in maize and common bean. **Journal of Plant Interactions**, v.14, n.1, p.432-439, 2019.
- LOPES, G.R. et al. Biological strategy to improve decomposition of organic matter in tilápia pond. **Acta Limnologica Brasiliensia**, 2020, vol. 32, e27. 2020.
- LU, H. et al. Physiological response with *Bacillus subtilis* and *saccharomyces cerevisiae* inoculation into soil under reclaimed water–fresh water combined irrigation. **Water**, v.13, p. e773, 2021.<https://doi.org/10.3390/w13060773>
- LUNDGREN, M.R. et al. Despite Phylogenetic Effects, C3-C4 Lineages Bridge the Ecological Gap to C4 Photosynthesis. **Journal of Experimental Botany**, v.68, n.2, p. 241-254, 2016.

MA, J. et al. Cobalt ferrite nanozyme for efficient symbiotic nitrogen fixation via regulating reactive oxygen metabolism. **Environmental Science: Nano**, v.8, p.188-203, 2021.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. Piracicaba: Associação Brasileira da Potassa e do Fosfato, 1997. 319p.

MANTELIN, S. et al. Plant growth-promoting bacteria and nitrate availability: impacts on root development and nitrate uptake. **Journal of Experimental Botany**, v.55, n.394, p.27-34, 2004.

MANTOVANI, E.C.; BERNARDO, S.; PALARETTI, L.F. **Irrigação: princípios e métodos**. Viçosa: UFV, 2009. 355p.

MARAMBE, Y. et al. Modeling evapotranspiration for C3 and C4 crops in the western lake erie basin using remote sensing data. **Remote Sensing and Spatial Information Sciences**, v.3, n.11, p.73-77, 2020.

MARQUES, D.M. **Déficit hídrico e doses de nitrogênio na morfofisiologia e produção de genótipos de milho inoculados por *Azospirillum brasilense***, UFLA, 2019. 79p. Tese (Doutorado em Botânica Aplicada) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MARWEIN, M.A. et al. Response of water deficit regime and soil amelioration on evapotranspiration loss and water use efficiency of maize (*Zea mays* L.) in subtropical northeastern Himalayas. **International Journal of Biometeorology**, v.61, n.5, p.845-855, 2017.

MASOULEH, S.S.S. et al. The role of organic solutes in the osmotic adjustment of chilling-stressed plants (vegetable, ornamental and crop plants). **Ornamental Horticulture**, Viçosa-MG, v.25, n.4, p.434-442, 2019.

MATOS, C.C. et al. Competitive Capacity and Rhizosphere Mineralization of Organic Matter During Soil-Herb Microbiota Interactions. **Planta Daninha**, v.37, e019182676, 2019.

MCMURTRIE, R.E. et al. Quantifying the contribution of mass flow to nitrogen acquisition by an individual plant root. **New Phytologist**, v.218, p.119-130, 2018.

MOHAMED, E.A.H. et al. Phosphate solubilization by bacillus subtilis and serratia marcescens isolated from tomato plant rhizosphere. **Journal of Environmental Protection**, 9, 266-277, 2018.

MONDANI, F. et al. Evaluating effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the radiation use efficiency and yield of soybean (*Glycine max*) under water deficit stress condition. **Agricultural Water Management**, v.213, p.707-713, 2019.

MONTILLET, J.L. et al. Plastidial and cytosolic thiol reductases participate in the control of stomatal functioning. **Plant, Cell & Environment**, v. 44, n.5, p.1417-1435, 2021.

NIE, Z. et al. Gene expression related to molybdenum enzyme biosynthesis in response to molybdenum deficiency in winter wheat. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v.16, p.979-990, 2016.

NUNES, R.S. et al. Distribution of soil phosphorus fractions as a function of long-term soil tillage and phosphate fertilization management. **Frontiers in Earth Science**, v. 8, e350.2020.

OLATUNJI, O. A. et al. 2018. Influence of phosphorus application and water deficit on the soil microbiota of N₂-fixing and nonN-fixing tree. **Ecosphere**, v. 9, n.6, e02276. 2018.

PAIVA, M.R.F.C. et al. Doses de nitrogênio e de fósforo recomendadas para produção econômica de milho-verde na chapada do Apodi-RN. **Revista Caatinga**, Mossoró, v.25, n.4, p.1-10, 2012.

PANIGRAHI, S. et al. Characterization of endophytic bacteria *Enterobacter cloacae* MG00145 isolated from *Ocimum sanctum* with Indole Acetic Acid (IAA) production and plant growth promoting capabilities against selected crops. **South African Journal of Botany**, v.134, p.17-26, 2020.

PARDO P. et al. Relationships between phosphorus fractionation and major components in sediments using the SMT harmonised extraction procedure. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.376, p.248-254, 2003.

PEREIRA, L.S. et al. Watermelon yield and efficiency of use of water and nitrogen. **Revista Caatinga**, v. 32, n. 3, p. 769 -777, 2019.

PEREIRA, W. et al. Sugarcane productivity as a function of nitrogen fertilization and inoculation with diazotrophic bacteria that promote plant growth. **Sugar Tech**, v.21, p.71-82, 2019.

PINHEIRO, C. et al. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data? **Journal of Experimental Botany**, v.62, p.869-882, 2011.

PLETT, D.C. et al. The intersection of nitrogen nutrition and water use in plants: new paths toward improved crop productivity. **Journal of Experimental Botany**, v.71, n.15, p.4452-4468, 2020.

QUATRIN, M.P. et al. Response of dual-purpose wheat to nitrogen fertilization and seed inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.43, e027718, 2019.

RAMAKRISHNA, W. et al. Brown Gold of Marginal Soil: Plant Growth Promoting Bacteria to Overcome Plant Abiotic Stress for Agriculture, Biofuels and Carbon Sequestration. **Science of The Total Environment**, v.711, e135062, 2019.

RANA, M.S. et al. Soil phosphorus transformation characteristics in response to molybdenum supply in leguminous crops. **Journal of Environmental Management**, v.268, e110610, 2020.

RHO, H. et al. **Effects on photosynthesis and water use of plant hosts: a metaanalysis**. In: DOTY, S. (Eds.). *Functional Importance of the Plant Microbiome*. Washington, Springer, 2017. p. 43-69.

ROYCHOUDHURY, A. et al. **Cobalt and molybdenum transport in plants**. In: ROYCHOUDHURY, A.; TRIPATHI, D.K.; DESHMUKH, R. (Eds.). *Metal and Nutrient Transporters in Abiotic Stress*. Índia, Academic Press-Elsevier, 2021. p.199-211.

RUFINO, A.C. et al. Water Stress Influence on The Vegetative Period Yield Components of Different Maize Genotypes. **Agronomy**, v.8, n.8, p.1-9, 2018.

SAEID, A. et al. Phosphorus solubilization by *Bacillus* species. **Molecules**, v. 23, n.11, e2897, 2018.

SANTANA, S.R.A. et al. Inoculation of plant growth-promoting bacteria attenuates the negative effects of drought on sorghum. **Archives of microbiology**, v.202, n.5, p.1015-1024, 2020.

SANTOS, W.O. et al. Coeficientes de cultivo e necessidades hídricas da cultura do milho verde nas condições do semiárido brasileiro. **Irriga, Botucatu**, Botucatu-SP, v.19, n.4, p.559-572, 2014.

SAUD, S. et al. Silicate application increases the photosynthesis and its associated metabolic activities in Kentucky bluegrass under drought stress and post-drought recovery. **Environmental Science and Pollution Research**, v.23, p.47-55, 2016.

SEVERO, P.J.S. **Crescimento e produção do milho verde sob lâminas de irrigação e produtos contendo BPCV ou Co + Mo**, UFCG, 2021. 53p. Dissertação (Mestrado em Horticultura Tropical) - Universidade Federal de Campina Grande, Pombal, PB.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. **An analysis of variance test for normality** (complete samples), *Biometrika*, v. 52, p. 591-611, 1965.

SILVA, F.G. et al. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em plantas de berinjela sob lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.19, n.10, p.946-952, 2015.

SILVA, R.A. et al. Características agronômicas de cultivares de milho verde submetidas a doses de Ribumin®. **Revista de Ciências Agrárias** v.39, n.3, p.395-403, 2016.

SISDAGRO. Instituto Nacional de Meteorologia – Inmet. **Sistema de Suporte à Decisão na Agropecuária**. Brasília, 2021. Disponível em: <http://sisdagro.inmet.gov.br/sisdagro/app/index>. Acesso em: 23 junho de 2021.

SOUSA, G.G. et al. Lâminas de irrigação para cultura do gergelim com biofertilizante bovino. **Magistra**, v. 26, n. 3, p. 343 - 352, 2014.

SUN, B. et al. *Bacillus subtilis* biofertilizer mitigating agricultural ammonia emission and shifting soil nitrogen cycling microbiomes. **Environment International**. v.144, 2020, e105989.

TAIZ, L. et al. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Porto Alegre: Artmed, 2017. 858p.

TEDESCO, M.J. et al. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: UFRGS, 1995. 174p.

TIEPO, A.N. et al. Enhanced drought tolerance in seedlings of Neotropical tree species inoculated with plant growth-promoting bacteria. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.130, p. 277-288, 2018.

TURATTO, M. F et al. Potencial de controle de *Meloidogyne javanica* e *Ditylenchus spp.* usando *Pseudomonas fluorescences* e *Bacillus spp.* **Brazilian Journal of Microbiology**, v.49 n.1, p.54-58, 2018.

UPADHYAYA, H. et al. **Drought Stress Responses and Its Management in Rice**. In: HASANUZZAMAN, M.; FUJITA, M.; NAHAR, K.; BISWAS, J.K. (Eds.). *Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance*. Estados Unidos da América, Woodhead Publishing, 2019. p.177-200.

VACHERON, J. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. **Frontiers in Plant Science**, v.4, n.356, p.1-19, 2013.

VISTOSO, E. et al. Competitive sorption of molybdate and phosphate in Andisols. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, v. 12, n. 1, p.59-72 2012.

- VURUKONDA, S.S.K.P. et al. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, v.184, p.13-24, 2016.
- WANG, Y. et al. Effect of irrigation regimes and nitrogen rates on water use efficiency and nitrogen uptake in maize. **Agricultural Water Management**, v.179, p.271-276, 2017.
- WU, Y. et al. Growth and transpiration of maize and winter wheat in response to water deficits in pots and plots. **Environmental and Experimental Botany**, Paris, v.71, p.65-71. 2011.
- YADAV, R. et al, *Bacillus subtilis* CP4, isolated from native soil in combination with arbuscular mycorrhizal fungi promotes biofortification, yield and metabolite production in wheat under field conditions. *Journal of Applied Microbiology*, v.131, p.339-359, 2020.
- YERRAMSETTY, P. et al. An *rbcL* mRNA-binding protein is associated with C₃ to C₄ evolution and light-induced production of Rubisco in *Flaveria*. *Journal of Experimental Botany*, v.68, n.16, p.4635-4649, 2017.
- ZAREI, T. et al. Improving sweet corn (*Zea mays* L. var *saccharata*) growth and yield using *Pseudomonas fluorescens* inoculation under varied watering regimes. **Agricultural Water Management**, v. 226, e105757, 2019.
- ZHENG, X. et al. Exogenous strigolactones alleviate KCl stress by regulating photosynthesis, ROS migration and ion transport in *Malus hupehensis* Rehd. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.159, p.113-122, 2021.